



# THÈSE

## En vue de l'obtention du DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par l'Université Toulouse 3 - Paul Sabatier

---

Présentée et soutenue par  
**Laurent INVERNIZZI**

Le 28 novembre 2019

**Développement, caractérisation et optimisation d'une source  
plasma pour le traitement de liquides.**

---

Ecole doctorale : **GEET - Génie Electrique Electronique et Télécommunications :  
du système au nanosystème**

Spécialité : **Ingénierie des Plasmas**

Unité de recherche :  
**DPHE - Diagnostic des plasmas hors équilibre**

Thèse dirigée par  
**Philippe GUILLOT et Florent SAINCT**

Jury

M. Eric ROBERT, Rapporteur  
M. David GRAVES, Rapporteur  
M. João SANTOS SOUSA, Examineur  
M. Olivier EICHWALD, Examineur  
Mme Marie-Pierre ROLS, Examinatrice  
M. Nader SADEGHI, Examineur  
M. Philippe GUILLOT, Directeur de thèse  
M. Florent SAINCT, Co-directeur de thèse







## ALLOCATIONS DE RECHERCHE

### SOUTIEN AUX DOCTORANTS - 2016

Par délibération de l'assemblée du conseil régional, le 27/05/2016, une subvention régionale de 74.380 € a été attribuée à l'INU J. F. Champollion dans le cadre de la politique régionale d'aide à la recherche (dossier numéro 15066768). Cette mesure est destinée à soutenir la valorisation des connaissances et le transfert du savoir-faire au bénéfice notamment des laboratoires par la formation des jeunes doctorants. L'objectif est de permettre à des étudiants de préparer une thèse en Occitanie et d'effectuer un travail de recherche dans un des établissements du site. Dans le cadre de cette thèse, le complément de financement a été apporté par l'INU J. F. Champollion.

Nous tenons à remercier la Région Occitanie et l'INU J. F. Champollion de leur soutien dans le cadre de ce travail de recherche.



# Remerciements

Pour commencer, un immense merci à *Philippe Guillot* et à *Florent Sainct* qui furent mes encadrants au cours de cette thèse. Ils m'ont fait confiance très rapidement ce qui m'a permis de m'améliorer en continu pendant ces trois années au laboratoire. Être accueilli au sein du laboratoire DPHE fut une très bonne expérience comme le climat qui y règne est très familial et chaleureux. J'ai toujours pu compter sur vous pour discuter s'il y avait besoin. La première année fut capitale pour moi car elle m'a permis de gagner en maturité dans le domaine des plasmas. C'est surtout grâce aux discussions quotidiennes que j'avais avec *Florent* qui m'ont rendu petit à petit sûr de moi et indépendant.

Je remercie l'ensemble des membres de mon jury de thèse qui fut littéralement composé de maîtres dans leur domaine respectif, ce qui m'a mis une pression énorme lors du rendu du mémoire et de la soutenance. Merci à *David Graves* et à *Eric Robert* qui ont accepté d'être mes rapporteurs. Merci à *Olivier Eichwald* d'avoir présidé le jury. Merci à *João Santos Sousa*, *Nader Sadeghi* et *Marie-Pierre Rols* d'avoir accepté d'être examinateurs.

Merci à toute l'équipe du DPHE que je n'ai pas encore cité : *Cristina Muja*, *Bruno Caillier*, *Laurent Thérèse*, *Juslan Lo*, *Thomas Maho* qui m'ont tous aidé d'une manière ou d'une autre à m'aider dans ce que je faisais. En particulier, je tiens à remercier *Cristina* qui m'a énormément aidé sur toute la microbiologie effectuée pendant ma thèse. Je partais de zéro, et pourtant à force de travail (et de finir tard) nous avons pu faire de belles choses en microbio grâce aux connaissances qu'elle possède dans ce domaine. Merci à *Adina Mihai* qui nous a apporté une grande aide sur toute la partie de l'étude concernant les protéines.

Que serait un laboratoire sans ses doctorants ? Je remercie tous mes co-bureaux qui ont dû me supporter pendant des temps plus ou moins longs selon leur temps de présence. *Laura Chauvet* et *Christopher Laurent* qui furent les vétérans à mon arrivée au laboratoire et qui m'ont très bien intégré dans l'équipe. *Abou Koné*, que j'ai longtemps comparé à Léonard de Vinci car tout comme lui il effectuait des sfumatos appliqués aux plasmas. *Abder Kais*, qui m'a toujours fait rire avec ses envies régulières de faire des pauses pour aller fumer. Souvent il réussissait à nous convaincre de venir avec lui, mais c'était pour avoir de très bonnes discussions donc c'était avec plaisir. *Manon Soulier*, l'experte de la langue française, la croqueuse d'amande, la faiseuse de cookies, avec qui j'ai eu de très bonnes discussions durant mon passage au DPHE (courage petit scarabée). *Ludovic Sudrie*, le gangster du groupe, avec qui j'ai partagé les déjeuners au RU et qui a une vie chargée de rebondissements. *Fatima Haddou*, son franc-parler m'étonnera

toujours ! *Donia Aïssa*, la stagiaire comme on la surnommait, avec qui j'ai passé du temps à expliquer ce que je connaissais de la physique des plasmas. Elle a joué le rôle de cobaye comme je n'ai jamais fait d'enseignement auparavant, j'ai quand même tout fait pour que son stage se passe bien ! Et finalement je souhaite un bon courage à *Ibtissam Courti* qui a débuté sa thèse au moment de mon départ, et à qui j'ai pu expliquer plusieurs notions liées à la physique. J'ai passé un excellent moment avec vous. Durant ma thèse je me suis beaucoup amusé en très grande partie grâce à vous.

*João* a été mon guide lors de mon entrée dans le domaine de la physique des plasmas, je tiens à l'en remercier chaleureusement pour cela. Sans les deux stages que j'ai effectués avec lui, je ne serais pas là aujourd'hui. Je n'aurais certainement pas fait le Master 2 Physique des Plasmas sans la passion qu'il a réussi à me transmettre. *Pierre-Marie Girard* y a également contribué en me dévoilant tout un pan des jets de plasma appliqués à la biomédecine, donc merci à lui. Je tiens à remercier le Laboratoire de Physique des Gaz et des Plasmas (LPGP) qui m'a volontiers cédé une partie des logiciels permettant de réaliser les inversions d'Abel présents dans ce travail, ce qui m'a fait gagner plusieurs années de travail à coder !

Le Réseau des Plasmas Froids a fortement contribué à améliorer la qualité de cette thèse en nous prêtant une diode laser. *Nader* m'a fait profiter d'une partie de ses connaissances dans le domaine des plasmas et des diagnostics laser (connaissances que je suppose infinies). Nous nous sommes échangés un nombre incalculable de mails, d'une longueur incalculable chacun, pour discuter de la pertinence des mesures réalisées, et de ce que l'on pouvait en tirer d'intéressant. *Nader* m'a fait toucher du doigt le vrai monde de la physique, et je l'en remercie pour cela, ainsi que pour l'énorme quantité de temps qu'il a passé à me conseiller et à faire des manips avec moi.

Merci aux personnes externes au DPHE mais affilié à l'université Champollion qui m'ont aidé à leur manière dans mon projet : *Delphine, Jenny, Francis, Karen, Valérie, Soraya, Sylvie, Patrick* et toutes les personnes du service technique.

Un immense merci à *Michael Faraday* pour avoir inventé des cages, sans lui je n'aurais tout simplement pas utilisé de diagnostics physiques. Et la physique c'est cool.

Enfin, je tiens à remercier ma famille, mes parents et mon frère qui ont toujours été là pour me soutenir ! Et à Alexandra, la lumière de ma vie, avec qui je vais passer les 74 années restantes de ma vie (hihihi) ! Nos sessions skype journalières vont me manquer, même si finalement je préfère largement être physiquement avec toi, comme nous le ferons dans tout le reste de notre vie (rehihihi).

*« Il est à côté... »*

*François Asselineau*





# Résumé

Depuis quelques dizaines d'années, un intérêt grandissant dans la caractérisation et l'optimisation des jets de plasma à pression atmosphérique a vu le jour grâce à la variété d'applications possibles. L'une d'entre elle concerne la décontamination de liquides contenant des polluants. En effet, le plasma est capable de créer des agents oxydants tels que des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (RONS), des champs électriques, des radiations UV/VUV et des espèces chargées. En particulier, la variété et le nombre de RONS qui sont créés et déposés en phase liquide sont deux paramètres clés dont la compréhension et l'optimisation sont fondamentales pour pouvoir développer une source plasma efficace en terme de décontamination de liquides.

La création de RONS est possible par une cascade de transferts d'énergie entre les espèces issues du plasma, l'air qui les entourent et la cible liquide placée en contact avec le jet de plasma. Il est donc nécessaire d'étudier les espèces qui donnent naissance aux RONS, à savoir les atomes d'hélium métastable  $\text{He}(2^3\text{S})$  entre autres. Ces espèces ont la particularité de posséder une énergie relativement conséquente (19.8 eV), en plus de pouvoir la conserver pendant plusieurs dizaines de nanosecondes dans le cas où un mélange  $\text{He} + 0.2\% \text{O}_2$  est utilisé. La collision entre ces métastables et les espèces de l'air est à l'origine de la création d'espèces réactives en phase gazeuse qui se déposent ensuite en phase liquide, permettant de réduire voire de détruire le polluant présent dans l'eau. Dans ce travail, l'étude est séparée en trois parties : le plasma, le liquide et l'efficacité biocide du jet de plasma.

Dans ce travail de thèse, l'étude de l'influence de la géométrie de la source, du débit ou encore du mélange gazeux sur la quantité des atomes d'hélium métastable dans le jet de plasma est réalisée par spectroscopie d'absorption laser lors de son interaction avec une cible liquide. L'utilisation de l'inversion d'Abel permet de déterminer la densité et la durée de vie de ces espèces localement dans le jet de plasma. La spectroscopie d'émission optique est utilisée pour obtenir une cartographie d'une partie des espèces excitées entre 200 et 1000 nm présentes dans le jet. Ces espèces en phase gazeuse sont également étudiées grâce à l'utilisation d'une caméra intensifiée permettant de suivre l'évolution spatio-temporelle du jet de plasma au cours de sa propagation dans l'air jusqu'à son contact avec le liquide. L'optimisation de la production des atomes d'hélium métastable et des espèces excitées est notamment réalisée en utilisant une source asymétrique dont l'électrode de masse a une surface supérieure à celle d'une source plus conventionnelle ou symétrique.

Les quantités des principaux RONS tels que les peroxydes d'hydrogène, les nitrites et les nitrates ont été mesurées afin de mieux comprendre les causes de la disparition des polluants de l'eau telle que le bleu de méthylène, considéré dans cette étude comme un modèle de molécule complexe. Les rôles combinés du pH acide et des espèces à courtes durée de vie semblent représenter le point central expliquant la dégradation du bleu de méthylène.

L'étude de l'efficacité biocide du plasma vient compléter ce travail en étudiant le comportement des bactéries (*E. coli* K12) en phase liquide après leur traitement par plasma, révélant ainsi une réponse enzymatique particulière tendant à contrer les agents oxydants apportés par le plasma. L'une de ces réponses consiste à faire entrer les bactéries dans un état viable mais non cultivable, les rendant temporairement très résistantes face au traitement par le jet de plasma.

# Abstract

In recent decades, a growing interest in the characterization and optimization of atmospheric pressure plasma jets has emerged due to the variety of possible applications. One of them concerns the decontamination of liquids containing pollutants. Indeed, plasma jets are capable of creating oxidizing agents such as reactive oxygen and nitrogen species (RONS), electric fields, UV/VUV radiation and charged species. In particular, the variety and number of RONS that are created and deposited in the liquid phase are two key parameters. Understanding and optimizing them is fundamental to the development of an effective plasma source for liquid decontamination.

The creation of RONS is possible by a cascade of energy transfers between the species in the plasma, the surrounding air and the liquid target placed in contact with the plasma jet. Therefore, it is necessary to study the species providing these RONS, namely the metastable helium atoms  $\text{He}(2^3\text{S})$ . These species have the particularity of storing a relatively high energy (19.8 eV), and can release it several tens of nanoseconds after, in the case of plasma in  $\text{He} + 0.2\% \text{O}_2$  mixture. The collision between these metastables and air species causes the creation of reactive species in the gas and liquid phase. These reactive species can then reduce or destroy the pollutant present in the water. In this work, the study is separated in three parts: the plasma, the liquid, and the biocidal efficiency of the plasma jet.

The study of the source geometry influence, the flow rate or the gas mixture on the quantity of metastable helium atoms in the plasma jet is performed by laser absorption spectroscopy. The use of Abel inversion allows the density and lifetime of these species to be determined locally in the plasma jet during its interaction with a liquid target. Optical emission spectroscopy is used to map all excited species between 200 and 1000 nm present in the plasma jet. These excited species in the plasma are also studied using an intensified camera to monitor the spatial and temporal evolution of the plasma jet during its propagation in the air. The asymmetric source, whose mass electrode has a larger surface than a conventional source (symmetric source), produces more metastable helium atoms and excited species.

The quantities of the main RONS (hydrogen peroxides, nitrites and nitrates) were measured in the liquid. The complex molecule targeted in this study to model water pollutant is methylene blue. The combined roles of acidic pH and short-lived species seem to represent the key point explaining the degradation of methylene blue.

The study of the biocidal efficiency of the plasma jet complements this work. The behavior of bacteria (*E. coli* K12) in the liquid phase after treatment by the plasma is investigated. A particular enzymatic response is thus revealed, tending to counter oxidizing agents provided by the plasma. One of these responses is the viable but non-culturable state, allowing the bacteria to be temporarily very resistant to the plasma treatment.

# Liste des publications

## Conférences

- **L. Invernizzi**, C. Muja, F. P. Sainct and Ph. Guillot, “*Experimental study of a DBD APPJ on the chemistry of a liquid target*”, International Conference on Plasma Liquid (ICPL), Prague, Czech Republic (06-08 Mars 2017).
- **L. Invernizzi**, C. Muja, F. P. Sainct and Ph. Guillot, “*Chemical and Electrical Characterization of a Liquid Target Treated by a He/O<sub>2</sub> Plasma Jet*”, 4<sup>th</sup> International Workshop on Plasma for Cancer Treatment (IWPCCT), Paris, France (16-17 Mars 2017).
- **C. Muja**, **L. Invernizzi**, F. P. Sainct and Ph. Guillot, “*Study of chemical modifications induced by an APPJ on an ultra-pure water target*”, 33<sup>rd</sup> International Conference on Phenomena in Ionized Gases (ICPIG), Lisbon, Portugal (10-14 Juillet 2017).
- **F. P. Sainct**, **L. Invernizzi**, C. Muja and Ph. Guillot, “*Experimental study of the degradation of chemical substance dissolved in water by an APPJ discharge*”, 23<sup>rd</sup> International Symposium on Plasma Chemistry (ISPC), Montréal, Canada (30-04 Juillet-Août 2017).
- **L. Invernizzi**, C. Muja, F. P. Sainct and Ph. Guillot, “*Utilisation d’un jet plasma à pression atmosphérique pour la décontamination moléculaire de liquides*”, GdR ABioPlas, Paris, France (19-20 Octobre 2017).
- **L. Invernizzi**, **C. Muja**, F. P. Sainct and Ph. Guillot, “*Investigation of bacteria sublethal injuries in liquid by He/O<sub>2</sub> plasma jet*”, 7<sup>th</sup> International Conference on Plasma Medicine (ICPM), Philadelphia, USA (17-22 Juin 2018).
- **L. Invernizzi**, N. Sadeghi, F. P. Sainct and Ph. Guillot, “*Characterization of He plasma jet in interaction with a liquid target by laser absorption spectrometry and optical emission spectroscopy*”, 24<sup>th</sup> Europhysics Conference on the Atomic and Molecular Physics of Ionized Gases (ESCAMPIG), Glasgow, United Kingdom (17-21 Juillet 2018).
- **L. Invernizzi**, N. Sadeghi, F. P. Sainct and Ph. Guillot, “*L’influence d’une surface liquide en face d’un jet de plasma d’hélium sur les mécanismes d’excitation des espèces et la densité des métastables He (<sup>3</sup>S<sub>1</sub>)*”, 14<sup>th</sup> Journées d’Echanges du Réseau des Plasmas Froids, La Rochelle, France (15-18 Octobre 2018).
- **L. Invernizzi**, N. Sadeghi, **F. P. Sainct** and Ph. Guillot, “*Influence of the source geometry on the helium He<sup>M</sup>(2<sup>3</sup>S) metastable atoms production in a He/O<sub>2</sub> plasma jet impacting on liquid surface*”, 24<sup>th</sup> International Symposium on Plasma Chemistry (ISPC), Naples, Italy (09-14 Juin 2019).

- **L. Invernizzi**, C. Muja, F. P. Saint and Ph. Guillot, “*Utilisation d’un jet de plasma froid à pression atmosphérique pour la décontamination de liquide : mécanismes de désactivation des bactéries*”, Journée thématique des GDR B2i et Happybio, Paris, France (01 Octobre 2019).

## Article

- **L. Invernizzi**, C. Muja, F. P. Saint and Ph. Guillot, “*Investigation of RONS production and complex molecules degradation induced by an APPJ generated by two different sources*”, IEEE Transactions on Radiation and Plasmas Medical Sciences.

# Table des matières

Résumé	i
Abstract	ii
Liste des publications	iii
Introduction générale	1
1. Motivation	2
2. Objectifs et plan de la thèse	2
Chapitre 1 – Etat de l’art	5
1. Contexte de l’étude	6
1.1. Dépollution de l’eau : stations d’épuration des eaux usées	6
1.2. Polluants de l’eau	7
1.3. Autres procédés impliqués dans la dépollution des eaux	8
1.4. Bilan des dispositifs actuellement mis en œuvre pour dépolluer les eaux usées	12
2. Introduction aux plasmas froids	13
2.1. Généralités	13
2.2. Création des plasmas froids	15
2.3. Techniques pour éviter le passage à l’arc	19
2.4. Utilisation d’un mélange de gaz plasmagène	21
3. Interaction plasma/cible	22
3.1. Effets du plasma sur une cible liquide	22
3.2. Effets de la présence d’une cible sur le jet de plasma	27
3.3. Décontamination de liquide par plasma	32
4. Conclusion	35
Chapitre 2 - Dispositif expérimental, diagnostics et méthodes	37
1. Introduction	38
2. Dispositif expérimental	38
2.1. Sources plasma	38
2.2. Type de gaz et son transport	39
2.3. Alimentation électrique	40

2.4. Cible traitée par le plasma	41
3. Matériel et méthodes physiques	41
3.1. Diagnostics électriques	41
3.2. Spectroscopie d'absorption laser	46
3.3. Spectroscopie d'émission optique	67
3.4. Imagerie iCCD	69
3.5. Conclusion	74
4. Matériel et méthodes chimiques	74
4.1. Matériel	74
4.2. Méthodes	75
4.3. Conclusion	81
5. Matériel et méthodes microbiologiques	81
5.1. Matériel	81
5.2. Méthodes	85
5.3. Conclusion	95
Chapitre 3 - Influences physico-chimiques d'une cible liquide sur le jet de plasma	97
1. Introduction	98
2. Caractérisation de la phase plasma	102
2.1. Spectroscopie d'absorption laser : mesure de la densité et de la durée de vie des atomes d'hélium métastable dans le jet de plasma	102
2.2. Spectroscopie d'émission optique et imagerie intensifiée CCD filtrée en longueur d'onde	118
3. Conclusion	129
Chapitre 4 - Influences chimiques du jet de plasma sur la cible liquide	133
1. Introduction	134
2. Détermination des conditions opératoires à fixer (distance, débit et durée d'impulsion)	134
3. Mesures de la température et de la perte de masse de la cible liquide	136
4. Détection et quantification des RONS en phase liquide	138
4.1. Evolution spatio-temporelle des RONS	138
4.2. Mesure de la concentration des RONS	140

5. Mécanismes de dégradation d'une molécule complexe : le bleu de méthylène	144
6. Conclusion	148
Chapitre 5 – Mécanismes de défense et d'inactivation des bactéries après leur traitement par plasma	151
1. Introduction	152
2. Impact du jet de plasma sur la survie bactérienne	152
2.1. Influence de la géométrie de la source plasma	152
2.2. Influence de la nature du liquide	154
2.3. Influence du temps d'exposition	156
2.4. Influence de la phase de croissance des bactéries	159
3. Impact du jet de plasma sur les membranes bactériennes	165
3.1. Modifications membranaires vues par la microscopie électronique à balayage	165
3.2. Quantification de la perméabilisation des membranes des bactéries	167
3.3. Etude de la perméabilisation des membranes par peroxydation des lipides	170
4. Mécanismes de défense des bactéries contre les agents oxydants apportés par le plasma	172
4.1. Lésions sous-létales induites par le plasma	172
4.2. Quantification des enzymes impliquées dans la réponse des bactéries au stress oxydatif	174
5. Conclusion	179
Conclusion générale	181
Perspectives	187
Annexes	191
Références	203





# Introduction générale

## 1. Motivation

Les plasmas froids à pression atmosphérique ont fait l'objet d'un véritable engouement depuis deux décades du fait de leur forte réactivité chimique. En particulier, les jets de plasma initialement créés dans un gaz rare, sont capables de se mélanger avec l'air environnant afin de fournir une variété d'espèces réactives suffisamment importante pour qu'ils soient considérés comme un outil remarquable dans de nombreux domaines : décontamination de matériaux thermosensibles, traitement des cancers, dermatologie, etc.

Une prise de conscience générale a récemment eu lieu quant à la qualité de l'eau qui nous entoure, révélant ainsi la difficulté des techniques actuelles à supprimer la totalité des polluants de l'eau. En France, les eaux usées sont traitées par des systèmes d'assainissement tels que les stations d'épuration, avant d'être rejetées dans les cours d'eau ou envoyées dans les circuits d'eau potable. Des études ont montré que l'eau que l'on consomme quotidiennement contient des traces de divers polluants, que ce soient des médicaments, des colorants, des herbicides, ou même des bactéries, capables d'induire des dommages importants chez l'être humain, ainsi qu'à la faune et à la flore.

En accord avec leur forte réactivité, les plasmas froids pourraient constituer un atout majeur dans la dépollution de l'eau. Cependant, la mise en place à grande échelle d'une telle technologie ne peut être réalisée qu'en comprenant les mécanismes ayant lieu au sein de l'interaction entre le jet de plasma et la cible liquide. L'ensemble de ces mécanismes constitue à l'heure actuelle un verrou technologique qu'il est nécessaire de lever pour déterminer la faisabilité du processus de dépollution de l'eau. C'est dans ce contexte que la contribution de ce travail de thèse s'inscrit.

## 2. Objectifs et plan de la thèse

Le chapitre 1, constituant l'état de l'art, a pour objectif de mettre en avant les technologies actuelles utilisées dans le processus de décontamination d'un liquide. Le plasma, par son caractère polyvalent, peut compléter ces technologies afin de détruire les polluants difficiles à dégrader par les méthodes conventionnelles. Comme l'interaction entre un jet de plasma, la cible liquide et son contenu est complexe à interpréter, un travail conséquent est nécessaire afin de mieux comprendre les mécanismes à l'origine de la dépollution de l'eau, amenant à l'optimisation du traitement par le plasma.

Le chapitre 2 établit le récapitulatif de l'ensemble du matériel et des méthodes utilisés au cours de ce travail. Il est organisé en trois sections reposant sur des études physiques, chimiques et microbiologiques.

La suite du manuscrit regroupe les résultats et leurs interprétations obtenus au cours de cette thèse, s'articulant autour de trois grandes thématiques qui constitueront le fil rouge de ce travail. Ces trois thématiques sont les suivantes : l'influence du liquide sur les propriétés physico-chimiques du plasma, l'influence du plasma sur la chimie induite au sein du liquide, et les conséquences de l'action des agents oxydants générés par le plasma sur les microorganismes contenus dans le liquide. Tout au long de cette étude, deux sources plasma de géométrie différente sont utilisées afin de révéler l'influence de cette géométrie sur la génération du plasma et son interaction avec la cible liquide.

Le premier axe est étudié dans le chapitre 3 et concerne l'étude de la phase plasma lorsqu'une cible liquide est positionnée sous le jet de plasma. En effet, l'ajout d'une cible provoque une modification de la composition physico-chimique du plasma notamment par le renforcement de son champ électrique. Les diagnostics utilisés pour révéler les rayonnements issus des espèces excitées sont l'imagerie intensifiée et filtrée en longueur d'onde et la spectroscopie d'émission optique. En particulier, le comportement des émissions des espèces excitées provenant de l'air et du gaz plasmagène est étudié. La technique de l'absorption laser permet de sonder le jet de plasma afin de quantifier à la fois la densité et la durée de vie des atomes d'hélium métastables. L'utilisation de l'inversion d'Abel, dont le processus peut s'avérer délicat dans le cas des hautes absorptions, permet de s'affranchir de l'intégration de ces mesures le long de la ligne de visée du laser, afin de déterminer ces deux grandeurs localement dans le jet de plasma.

L'influence du jet de plasma sur le liquide est étudiée dans le chapitre 4. Le jet de plasma est capable de générer une variété d'espèces réactives en phase gazeuse se déposant ensuite en phase liquide. Ce phénomène de dépôt d'espèces a pu être révélé par l'utilisation d'un suivi colorimétrique pendant le traitement. La quantification des espèces réactives en phase liquide telles que les peroxydes d'hydrogène, les nitrites et les nitrates, est également réalisée par des techniques colorimétriques. Finalement, la détermination des mécanismes en jeu lors de la dégradation d'une molécule complexe, ici le bleu de méthylène, est également étudiée dans cette partie afin de révéler la contribution des agents oxydants majeurs apportés par le plasma en phase liquide sur cette dégradation.

Pour finir, le chapitre 5 est consacré aux réponses complexes que des cellules vivantes, telles que les bactéries *Escherichia coli*, sont capables de déployer face au stress induit par le plasma. La proportion de bactéries capable de survivre à de telle condition est révélée par l'étude de leur dénombrement sur gélose ou par l'évaluation de leur activité respiratoire. Les mécanismes d'inactivation des bactéries sont mis en évidence par l'étude de la perméabilité membranaire et de la peroxydation des lipides membranaires. La microscopie électronique à balayage permet également de contribuer à l'élucidation de l'action des agents oxydants du plasma sur les bactéries. De plus, la façon dont les

bactéries répondent face aux conditions oxydantes afin de contrer les effets du jet de plasma, peut être quantifiée par l'étude de leur profil protéique, et plus particulièrement de la réponse des superoxydes dismutases qu'elles contiennent.

# Chapitre 1 – Etat de l’art

## 1. Contexte de l’étude

### 1.1. Dépollution de l’eau : stations d’épuration des eaux usées

En France les eaux usées ont fait l’objet de valorisation il y a seulement quelques années de cela. En effet, c’est en 1992 qu’une loi impose les conditions d’utilisation des eaux usées actuelles : l’eau est alors considérée comme faisant partie du patrimoine commun de la nation [1]. Jusqu’à cette date, le contrôle des eaux usées était beaucoup moins réglementé, et la plupart de ces eaux, qu’elles soient de nature domestique ou industrielle, étaient rejetées dans la rivière, dans la mer ou dans les océans. Cette loi impose notamment que toute habitation soit reliée à un système d’assainissement. Elle impose, non pas d’éliminer totalement les contaminants de l’eau usée, mais plutôt de retirer la majorité de ces polluants avant de la rejeter dans la nature. L’impact sur la faune et la flore est ainsi considérablement réduit.

Il existe deux types d’assainissement :

- l’assainissement collectif qui représente un réseau public collectant et transportant les eaux usées jusqu’à une station d’épuration ;
- l’assainissement non collectif qui représente un réseau privé lié à un groupe d’habitations (dans le cas où ces habitations ne sont pas reliées à un réseau d’égout prévu spécialement aux rejets des eaux usées).

Seul l’assainissement collectif sera considéré par la suite. A la sortie de l’habitation, les eaux usées sont évacuées par les égouts en direction de la station d’épuration la plus proche. Les déchets sont de toutes sortes, de tailles différentes, solubles ou non dans l’eau, etc. La station d’épuration est composée de plusieurs structures, telle que représentée dans la Figure 1. Chacune d’elles est nécessaire dans l’élimination des impuretés de l’eau usée :

- la première consiste à filtrer grossièrement l’eau avec du grillage dont le maillage est suffisamment fin pour séparer les gros déchets solides de la phase liquide ;
- la seconde consiste à séparer l’eau du sable et des huiles par décantation. Le sable, plus dense, est retiré par le fond de la cuve par pompage alors que les huiles, moins denses, sont retirées par un système de balai qui racle l’eau et pousse les huiles dans un tuyau prévu pour les récupérer. A ce stade, l’eau contient encore de nombreuses impuretés dissoutes dans l’eau ;
- une partie de ces impuretés sont ensuite retirées grâce à l’utilisation des bactéries (il existe d’autres procédés, celui-ci est le plus répandu). Les bactéries peuvent digérer les

déchets pour les transformer en boue, comme elles le feraient dans la nature. Dans de nombreux cas ce processus est accéléré grâce à l'ajout de dioxygène depuis le fond de la cuve ;

- l'étape finale consiste en une nouvelle décantation. Les boues se déposent au fond de la cuve et sont récupérées afin de servir d'engrais. L'eau, débarrassée de ces boues, est contrôlée une dernière fois avant d'être rejetée dans la nature si, juridiquement, elle ne constitue plus une menace pour l'écosystème. En France la réglementation impose un pourcentage de pureté minimum de l'eau à respecter avant de la mêler à l'eau naturelle [2].

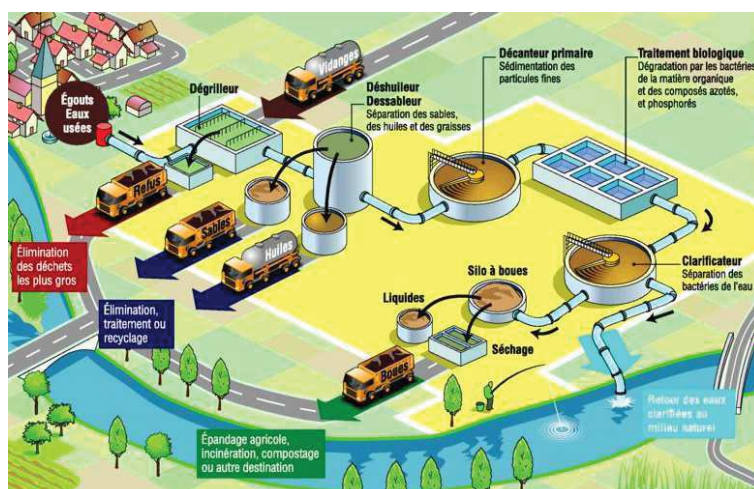


Figure 1 : Principe de fonctionnement simplifié d'une station d'épuration standard [3].

Cette réglementation est adaptée pour chaque région de France car elle dépend en grande partie de la source d'eau dans laquelle l'eau usée est rejetée, après son passage dans la station d'épuration. Dans tous les cas, à la sortie de la station d'épuration, l'eau peut contenir des quantités non négligeables de bactéries, de virus, de pesticides, de colorant ou encore de médicaments [4], difficiles à éliminer par les techniques classiques proposées par les stations d'épuration.

## 1.2. Polluants de l'eau

Deux grandes familles de polluants de l'eau associées à leur risque sur leur environnement sont mentionnées ici :

- les microorganismes qui comprennent les bactéries, les virus et les parasites. Leur présence dans l'eau a pour origine les déchets provenant d'animaux et d'humains. Les personnes qui consomment de l'eau contenant des microorganismes peuvent souffrir de maladies et d'infections gastro-intestinales [5]. La mort de plusieurs personnes a déjà été attribuée à la consommation de bactéries présentes dans les eaux [6] ;



- les produits chimiques organiques, largement utilisés dans les domaines de l’agriculture et de l’industrie. On les retrouve dans les colorants, les pesticides, les produits pharmaceutiques, etc. [7]–[9]. Les personnes qui consomment ces produits à des concentrations élevées peuvent souffrir de dommages aux reins, au foie, au système circulatoire, au système nerveux et au système reproducteur [10].

La présence de ces polluants ne se limite évidemment pas qu’à la France. Les pays en voie de développement sont les plus touchés par la toxicité de ces polluants présents dans les eaux, comme les normes régissant les conditions de leur utilisation sont différentes d’un pays à l’autre [11]–[13]. La concentration de ces impuretés ne fait qu’augmenter d’année en année dans les eaux [14], d’où l’intérêt de trouver un complément efficace à la station d’épuration s’occupant de dégrader le reste des impuretés qui peut lui échapper.

### 1.3. Autres procédés impliqués dans la dépollution des eaux

Actuellement il existe de nombreuses technologies capables de dégrader certains polluants de l’eau avec des efficacités variables. Chacune ayant ses spécificités, donc ses qualités et ses défauts. Il n’existe pas de moyen universel capable de détruire tous les polluants que peut contenir une eau polluée. La chloration a par exemple été le traitement le plus utilisé dans la purification des effluents de l’eau, avant de s’apercevoir des effets néfastes qu’elle peut engendrer. En effet, la réaction entre le chlore et la matière organique présente dans l’eau génère des sous-produits qui peuvent être dangereux à la fois pour la faune et pour la flore [15]. Il y a donc un réel besoin d’utiliser une technologie, et éventuellement de la coupler à une déjà existante, afin de dépolluer totalement une eau contenant toute sorte d’impuretés en des quantités plus ou moins élevées. Une liste non exhaustive des principaux modes de dépollution utilisés depuis plusieurs années est donnée ici.

#### 1.3.1. Filtration sur membrane

Une membrane est une barrière physique capable de bloquer ou de réduire le flux d’un composé afin qu’il puisse être séparé du reste du fluide dans lequel il baigne. Une membrane peut être conceptualisée par un milieu poreux qui ne permet l’écoulement que des espèces dont les tailles sont plus petites que le diamètre de ses pores [16]–[19].

Les membranes sont souvent préférées à d’autres technologies de traitement des eaux car elles ne nécessitent en principe aucun additif chimique ni aucun apport thermique [20]. La technologie membranaire permet l’élimination de solides en suspension, de bactéries (microfiltration), de virus (ultrafiltration), des métaux lourds et des matières organiques dissoutes (nanofiltration). Les membranes concernent également les processus de dessalement des eaux ou encore de la production d’eau ultra-pure (osmose inverse). L’ensemble de ces filtrations est représenté sur la Figure 2.

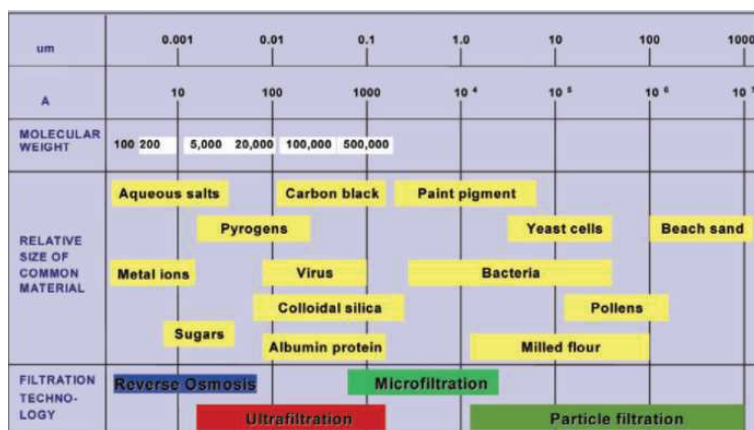


Figure 2 : Techniques de filtration en fonction de la taille des composés présents dans l'eau [18].

Bien que les membranes actuellement utilisées donnent de bons résultats dans de nombreuses applications, la quantité d'eau qu'il est nécessaire de dépolluer augmente de plus en plus. Dans ce contexte, les membranes se doivent d'être de plus en plus sélectives et résistantes. Obtenir de telles membranes nécessite d'utiliser de meilleurs matériaux pour les concevoir, donc d'augmenter leur coût de fabrication et d'entretien. C'est le principal obstacle à la mise en œuvre à grande échelle de la filtration membranaire : son coût d'investissement est pour le moment beaucoup trop élevé [21].

### 1.3.2. Irradiation par ultraviolets

La technologie d'irradiation par ultraviolets est principalement utilisée dans l'industrie du traitement de l'eau et des eaux usées comme procédé de désinfection, reposant sur l'effet germicide des UV dans la gamme de longueurs d'onde de 250 à 270 nm [22]–[24]. Elle a également été utilisée dans l'industrie agro-alimentaire pour décontaminer de la viande, afin d'augmenter sa durée de conservation tout en causant peu d'effet sur sa qualité alimentaire [25]–[27].

Le procédé est généralement conçu de telle sorte que l'eau s'écoule dans une zone étroite autour d'une série de lampes UV. Les microorganismes présents dans l'eau sont ainsi irradiés par l'exposition à la lumière UV. En général, le temps d'exposition de l'eau est de l'ordre de la seconde, voire de la minute [22]–[24]. L'ADN des microorganismes est alors touché par l'action des UV sur leurs acides nucléiques, ce qui perturbe leur reproduction et/ou leur réparation [20]. La sensibilité des bactéries aux UV varie d'une espèce à l'autre et d'une souche à l'autre. Un exemple de décontamination par des UV de bactéries *Escherichia coli* (O157:H7) contenues dans du cidre non pasteurisé est représenté sur la Figure 3.

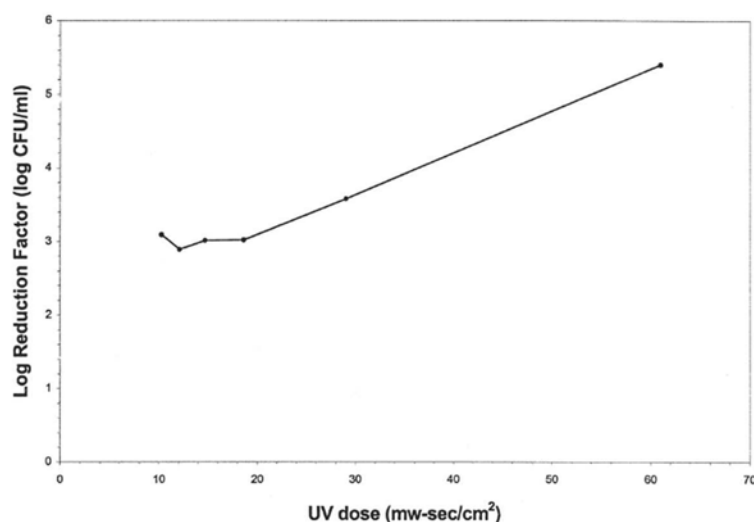


Figure 3 : Effets des radiations UV (254 nm) sur la décontamination de cidre non pasteurisé contenant des *Escherichia coli* (O157:H7) en fonction de la dose en UV utilisée [28].

Actuellement, la technologie de désinfection par UV est le plus souvent utilisée à petite échelle pour traiter des faibles volumes d'eau [20]. L'intérêt de cette technique repose sur le faible coût énergétique engagé dans la décontamination de l'eau et sur sa rapidité d'action par rapport à tous les autres systèmes d'assainissement. De plus, notons que cette technique ne change pas les propriétés organoleptiques des produits traités [28], [29]. Par contre, l'efficacité de ce procédé est inversement proportionnelle à la quantité d'autres particules présentes dans l'eau à traiter. La présence d'espèces plus grosses peut agir comme un bouclier entre les UV et les microorganismes qui sont alors peu ou pas affectés par le rayonnement UV [29]. La rapidité des traitements est dans ce cas devenue un inconvénient. Il est donc nécessaire de coupler l'irradiation UV avec un autre moyen de filtration pour pouvoir retirer en amont les plus grosses particules.

### 1.3.3. Procédé d'oxydation avancée

Une grosse partie de la recherche concernant le traitement de l'eau se concentre sur le développement de procédé d'oxydation avancée (advanced oxidation process ou AOP). Les AOP sont basés sur la photolyse par rayonnement UV de substances telles que l'ozone, le peroxyde d'hydrogène, etc. [30]–[32]. Ainsi, des espèces réactives de l'oxygène (reactive oxygen species ou ROS) telles que des radicaux hydroxyles, des anions radicalaires superoxydes, des ions ozonures et des hydroperoxydes sont générées.

Un exemple de décontamination d'une eau contenant une souche d'*Escherichia coli* est représenté sur la Figure 4 lors de l'utilisation de différents réactifs.

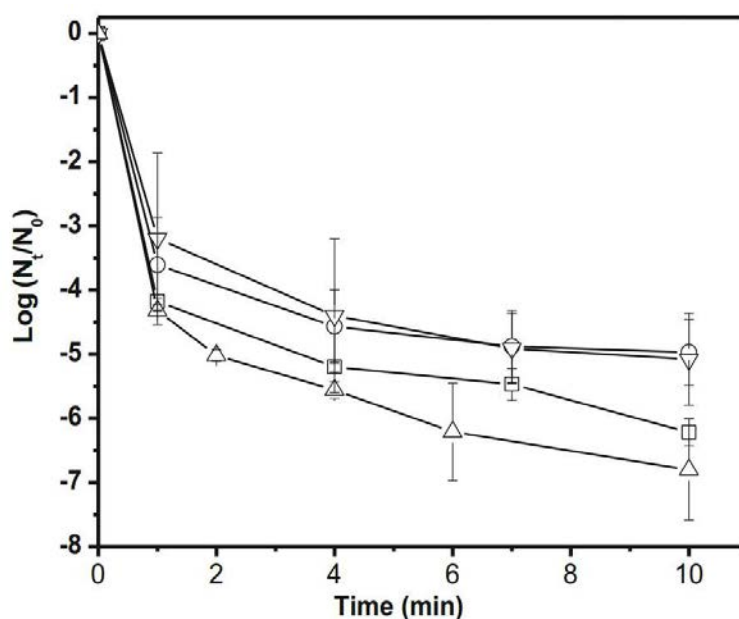


Figure 4 : Comparaison de différents procédés d’AOP dans la décontamination d’eau contenant une souche d’*Escherichia coli* :  $\text{O}_3$  (rond),  $\text{H}_2\text{O}_2$  (carré),  $\text{O}_3$  et  $\text{TiO}_2$  (triangle avec pointe vers le bas) et  $\text{O}_3 + \text{H}_2\text{O}_2 + \text{TiO}_2$  (triangle avec pointe vers le haut) [32].

L’avantage de cette technique repose sur sa possibilité de combinaison de plusieurs réactifs, réduisant ainsi le temps total d’inactivation des bactéries (ici la combinaison entre  $\text{O}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  et  $\text{TiO}_2$  semble optimale). Le temps du traitement devient donc de plus en plus court grâce à ce type de combinaison de réactifs [20], [32]. En revanche, il est encore nécessaire de quantifier la nature et la concentration des sous-produits issus de la dégradation des polluants de l’eau, afin de connaître leur toxicité [30], [33]. L’autre désavantage repose sur le coût de leur mis en œuvre relativement élevé.

#### 1.3.4. Echangeurs d’ions

La technologie de l’échange d’ions est utilisée depuis plusieurs dizaines d’années dans les domaines du génie chimique et du génie de l’environnement. Son utilisation s’est principalement limitée à l’adoucissement de l’eau (élimination du  $\text{Ca}^{2+}$  et du  $\text{Mg}^{2+}$ ) et à la production industrielle d’eau déminéralisée [20], [34], [35]. Toutefois, cette technologie trouve de nouvelles applications dans le traitement de l’eau afin d’éliminer des composés tels que le nitrate, l’arsenic, le plomb, le fluorure, etc. [36]–[38].

L’échange d’ions est une réaction chimique dans laquelle des ions mobiles faisant partie d’une partie solide, l’échangeur d’ions contenant une résine, sont échangés contre différents ions de charge similaire en solution. L’échangeur doit avoir une structure en réseau ouvert, qu’elle soit d’origine organique ou inorganique, permettant le transport des ions à travers sa structure. Au fur et à mesure que l’eau traverse la résine, les ions présents dans l’eau sont échangés avec les ions à la surface de la résine.

Un exemple d'échangeur d'ions en cours de traitement d'une eau est représenté sur la Figure 5.

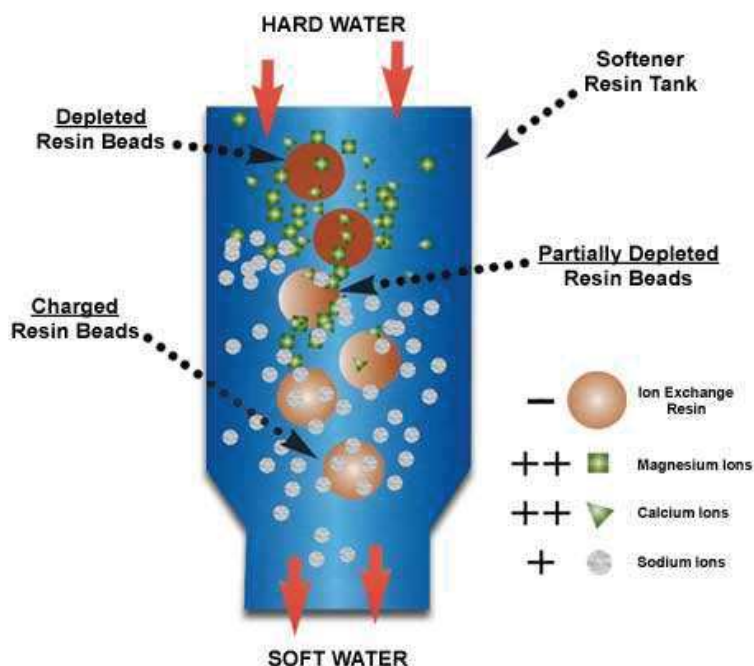


Figure 5 : Principe de l'échangeur d'ions [39].

L'atout principal de cette technique est sa capacité à retirer la plupart des ions en solution. Cet atout va de pair avec son principal défaut, à savoir le temps nécessaire à l'échange des ions. Plusieurs litres d'eau déminéralisée vont nécessiter de nombreuses heures de passage dans l'échangeur. De plus, comme les ions présents initialement dans l'eau s'accumulent sur les résines, il est nécessaire de fréquemment remplacer ces dernières pour ne pas compromettre la pureté de l'eau en sortie du dispositif. Le coût d'entretien est donc relativement élevé.

#### 1.4. Bilan des dispositifs actuellement mis en œuvre pour dépolluer les eaux usées

Les dispositifs énoncés précédemment sont les principaux moyens à l'heure actuelle, en plus des stations d'épuration, capable de détruire les polluants des eaux usées. Le principal frein expliquant la difficulté de mise en œuvre de ces dispositifs est très souvent lié à des problèmes économiques ou à des restrictions temporelles sur le traitement des eaux (à titre d'exemple, les stations d'épuration traitent des milliers de mètres cube d'eau par jour). La mise à grande échelle de ces technologies ne peut pas se faire sans avoir la garantie qu'elles soient à la fois peu coûteuses et efficaces dans la dépollution des eaux. De nombreuses études sont actuellement en cours pour initier des traitements rentables à plus larges échelles.

Les polluants de l’eau peuvent apparaître sous de multiples formes, telles que des cellules vivantes (bactéries, virus), ou sous forme de matière inorganique (médicament, pesticide, etc.). Une technologie est donc requise pour pouvoir agir de manière non sélective sur l’ensemble de ces polluants. Dans ce contexte, il est nécessaire de trouver un outil capable de combiner un maximum d’agents oxydants pour favoriser les chances de dépolluer l’eau. Le plasma froid à pression atmosphérique pourrait représenter le maillon manquant dans le processus de dépollution des eaux.

## 2. Introduction aux plasmas froids

### 2.1. Généralités

C’est en 1923 qu’Irving Langmuir proposa le terme « plasma » pour définir l’état ionisé de la matière [40]. Au même titre que l’état solide, liquide ou encore gazeux, l’état plasma est observable sur Terre à l’état naturel notamment sous la forme de foudre ou d’aurore boréale.

L’étude approfondie de l’espace a été réalisée pendant une grande partie du XX<sup>ème</sup> siècle notamment avec les travaux de Marconi sur les ondes courtes [41], mettant en avant la présence de l’ionosphère, une épaisse couche de plasma entourant la Terre située approximativement entre 100 et 1000 km d’altitude. S’ensuit alors la découverte d’autres types de plasmas stellaires, telles que les étoiles et le vent solaire. Les plasmas, qui sur Terre n’apparaissent qu’occasionnellement de manière naturelle, constituent la majeure partie de l’univers visible.

L’engouement des plasmas industriels survient dans la seconde moitié du XX<sup>ème</sup> siècle avec les plasmas chauds qui semblent promettre une grande source d’énergie à l’aide de la fusion thermonucléaire (ITER). Les plasmas froids font eux aussi leur apparition dans de nombreux domaines (notamment microélectronique, lampe, ozoneur), nécessitant également une approche fondamentale très poussée avant de pouvoir les utiliser à plus grande échelle. Dans les deux cas, le plasma se caractérise notamment par un mélange d’espèces : électrons, ions, atomes/molécules excité(e)s, métastables et espèces réactives.

En 1920, les premiers plasmas froids font leur apparition aux Etats-Unis sous le nom de « violet ray » [42]. Des tubes à basse pression, contenant un gaz rare ou un mélange de gaz rare, étaient placés en sortie d’un système générant des tensions et des courants à hautes fréquences, ayant pour effet d’allumer une décharge à l’intérieur du tube. En France, cette technologie arriva en 1928 sous le nom d’« Holo-Electron ». Une affiche faisant la publicité de ce produit est représentée sur la Figure 6.





Figure 6 : Affiche de l’« Holo-Electron », commercialisé en France en 1928 [43].

Ces deux instruments revendiquaient une multitude d’effets thérapeutiques tels que l’amélioration de la circulation sanguine, le traitement de l’arthrose, des migraines, etc. A l’approche d’une cible à traiter (une partie du corps humain), des filaments de plasma apparaissent entre la cible et le tube à basse pression, permettant a priori d’améliorer la guérison de la zone visée. Les années 1900 ont vu émerger une vaste communauté de physicien spécialisés dans les décharges appliquées au domaine biomédicale, avant de disparaître faute de crédibilité du point de vue de l’ensemble de la communauté scientifique et donc populaire [44]. Ce n’est seulement que très récemment que l’étude et l’utilisation des plasmas froids ont subi un regain d’intérêt conséquent, prenant ainsi une importance avec l’apparition d’un large panel d’application : gravure [45], [46], dépôt de couche mince [47], [48], propulsion spatiale [49], [50], combustion [51], [52], dépollution de l’air [53], biomédecine [54], [55], décontamination [56], [57], etc.

L’état plasma est obtenu en ionisant les atomes et/ou les molécules de gaz, c’est-à-dire en leur apportant suffisamment d’énergie, qu’elle soit d’origine thermique, lumineuse ou cinétique, pour arracher les électrons des atomes/molécules. Le coefficient d’ionisation  $\alpha$  permet de préciser si un plasma est faiblement ( $\alpha \ll 1$ ) ou fortement ionisé ( $\alpha \approx 1$ ). Son expression est la suivante :

$$\alpha = \frac{n_e}{n_e + n_n} \quad (1)$$

Où  $n_e$  est la densité électronique en  $\text{m}^{-3}$  et  $n_n$  est la densité d’espèces (neutres) non ionisée en  $\text{m}^{-3}$ .

A titre d’exemple, les plasmas chauds tels que ceux apparaissant dans la fusion thermonucléaire ont un coefficient d’ionisation compris entre  $10^{-1}$  et 1 [58]. Dans ce cas, les électrons libres et les ions sont assez énergétiques pour influencer le comportement du plasma, tels que  $T_e \approx T_i \approx T_{\text{gaz}}$  où  $T_e$  est la température électronique,  $T_i$  la température ionique et  $T_{\text{gaz}}$  la température du gaz. Le plasma est alors considéré à l’équilibre thermodynamique. Ces températures peuvent atteindre la dizaine voire la centaine de millions de degrés Celsius [58]. Des plasmas ayant des températures moins élevées ont également trouvé leur utilité dans le domaine industriel où le flux élevé de chaleur est utile pour le traitement des matériaux [59], [60] ou pour la stérilisation des déchets [61], [62]. Du fait de ces hautes températures, ce n’est pas cette catégorie de plasma qui sera utilisée dans ce manuscrit car la cible traitée est très sensible aux gros apports de chaleur.

Dans le cas des plasmas froids, le coefficient d’ionisation est situé autour de  $10^{-4}$  ou moins [63], [64]. On nomme généralement ce type de plasma « plasma hors-équilibre thermodynamique » car les températures le définissant ne sont pas toutes égales. En effet, les plasmas froids sont tels que  $T_e > T_{\text{vib}} > T_{\text{rot}} \approx T_i \approx T_{\text{gaz}}$  où  $T_e$  est la température électronique,  $T_i$  la température ionique,  $T_{\text{gaz}}$  la température du gaz,  $T_{\text{rot}}$  la température rotationnelle et  $T_{\text{vib}}$  la température vibrationnelle. En général la température électronique est comprise entre  $10^4$  et  $10^5$  K [65], [66], alors que la température des particules plus massives (les ions et les atomes/molécules) est confinée entre 300 et 1000 K environ [67], [68]. Cette « faible » température justifie l’utilisation des plasmas froids dans le traitement de surfaces thermosensibles. Deux grandes familles de plasmas froids se différencient par leurs pressions. Il en existe en effet à basse pression où les applications sont variées : gravure micro ou sub-micrométrique [45], [46], propulsion spatiale [49], [50], etc. Comme les moyens mis en œuvre pour créer ce type de plasma sont relativement onéreux du fait du maintien et du confinement de la basse pression, des applications à plus hautes pressions (pression atmosphérique notamment) sont utilisées pour s’en affranchir. Grâce à leur avantage économique couplé à la mise en œuvre à pression atmosphérique, le développement d’une multitude de sources de plasmas à cette pression a vu le jour et regroupe un grand nombre de domaines d’applications telles que le traitement des cancers [69], [70], la germination de graines [71], [72], ou encore la décontamination de liquides [73], [74]. Ces applications prometteuses sont encore à l’étude aujourd’hui, c’est d’ailleurs la dernière citée qui est au centre de ce travail.

## 2.2. Création des plasmas froids

Dans son état naturel, un gaz est un isolant électrique. Par contre si on lui applique une différence de potentiel suffisante, il devient conducteur. La tension à partir de laquelle le gaz passe de l’état isolant à conducteur se nomme « tension de claquage ». Ce phénomène



s'observe naturellement lors d'un orage : la grande différence de potentiel appliquée entre le nuage d'orage (chargé négativement) et la terre (chargée positivement) rend l'air conducteur, induisant ainsi un passage à l'arc dans l'air.

En 1889, Friedrich Paschen a remarqué que la tension de claquage dépendait fortement du produit entre la pression ( $P$ ) et la distance inter-électrode ( $d$ ). La Figure 7 présente les courbes de Paschen pour différents gaz.

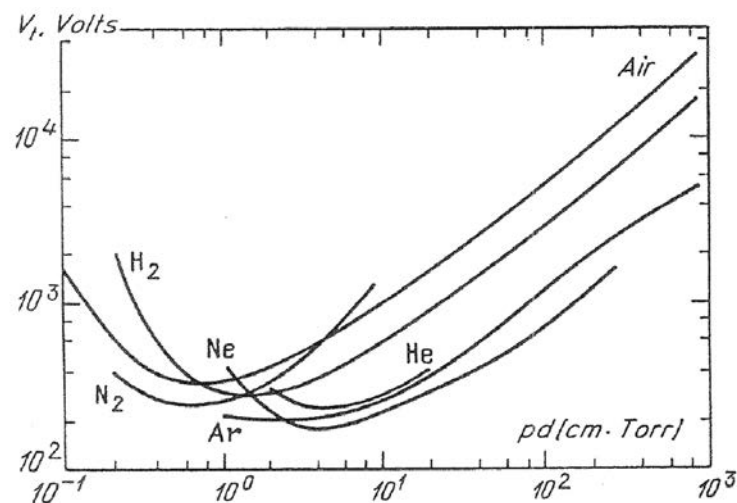


Figure 7 : Courbes de Paschen dans différents gaz [75].

La tension de claquage varie selon le gaz étudié et selon le produit  $P \cdot d$ . Les courbes de Paschen ont des formes paraboliques, il y a donc une valeur  $P \cdot d$  pour laquelle la tension de claquage est minimale. Trois zones peuvent être distinguées :

- lorsque le produit  $P \cdot d$  est petit, le libre parcours moyen des électrons est grand car la pression est faible, ce qui a pour effet de diminuer la probabilité de collisions entre les électrons et les neutres. Cette zone correspond au claquage de type pseudo-spark ;
- pour des produits  $P \cdot d$  élevés (pression élevée), les électrons ont une énergie cinétique trop faible entre deux collisions pour produire des collisions efficaces avec les neutres. Cette zone correspond au claquage de type streamer ;
- la zone centrale, qui contient le minimum de la courbe de Paschen, où la tension de claquage est la plus faible. Le claquage en jeu est de type Townsend.

Le modèle de Townsend, utilisé pour expliquer le claquage d'un gaz dans des conditions de faible pression, n'est pas valable pour décrire le claquage d'un gaz à pression atmosphérique. En effet, les mécanismes de charge d'espace, dus aux hautes densités ioniques et électroniques, commencent à gouverner la dynamique des particules chargées, contrainant ainsi le champ électrique externe appliqué. On parle alors de claquage de type « streamer ».

Les caractéristiques courant/tension des régimes Townsend et streamer sont représentées sur la Figure 8.

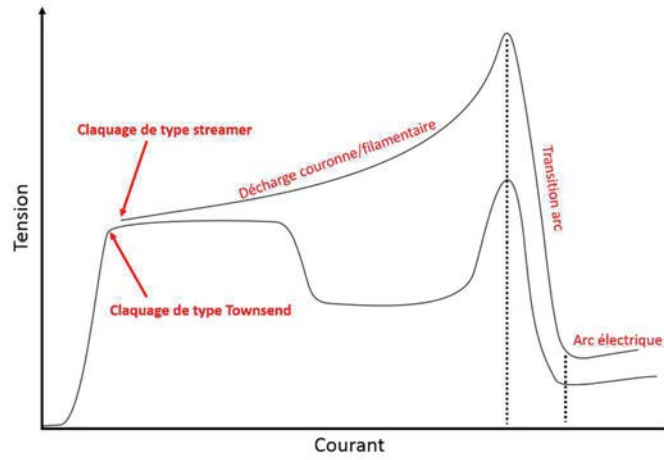


Figure 8 : Caractéristique courant/tension pour une décharge suivant le régime de Townsend (basse pression) ou de streamer (haute pression) [76].

A haute pression ou pour un produit  $P \cdot d$  élevé, la décharge est de type couronne (décharge dans l'air) ou filamentaire (décharge initiée dans un gaz rare par exemple). La condition d'obtention d'une décharge streamer au lieu d'une décharge de Townsend est donnée par le critère de Meek et Raether selon l'égalité :  $e^{\alpha x_{crit}} = N_{crit} = 10^8$  [77], [78] où  $x_{crit}$  est la taille critique de l'avalanche électronique qui conduit au claquage du gaz. Si le nombre d'électrons créé par l'avalanche électronique  $N_{crit}$  atteint  $10^8$ , le champ de charge d'espace  $E'$  devient du même ordre de grandeur que le champ électrique externe  $E_0$  ( $E' > E_0/3$ ). Dans ce cas, le claquage du gaz s'amorce sous un claquage de type streamer car le champ dans la tête de l'avalanche est déformé, tel que représenté sur la Figure 9.

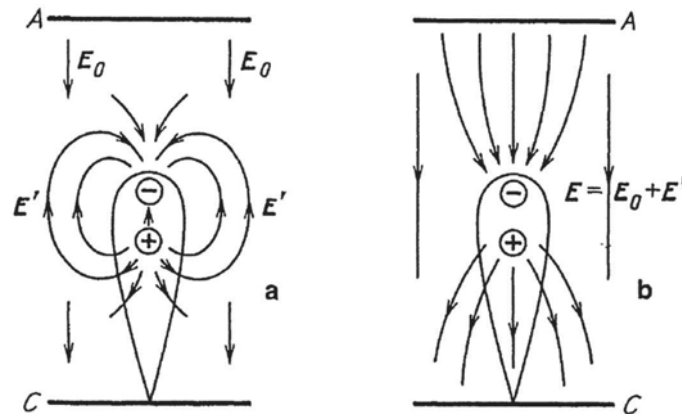


Figure 9 : Champ électrique dans une configuration plan/plan lors d'une avalanche électronique : a) déformation du champ électrique à la tête du streamer par le champ de charge d'espace de l'avalanche, b) résultante du champ électrique appliquée aux charges positives et négatives du streamer [75].

La distorsion de champ électrique renforce la vitesse de propagation de l'avalanche électronique, d'où la plus grande rapidité de mise en place du claquage streamer par rapport au claquage de type Townsend. A l'endroit dans la décharge où ce critère est atteint, deux streamers opposés se propagent : l'un est un streamer positif constitué de cations se propageant vers la cathode tel que montré sur la Figure 10, l'autre est un streamer négatif constitué d'électrons se propageant vers l'anode tel que montré sur la Figure 11.

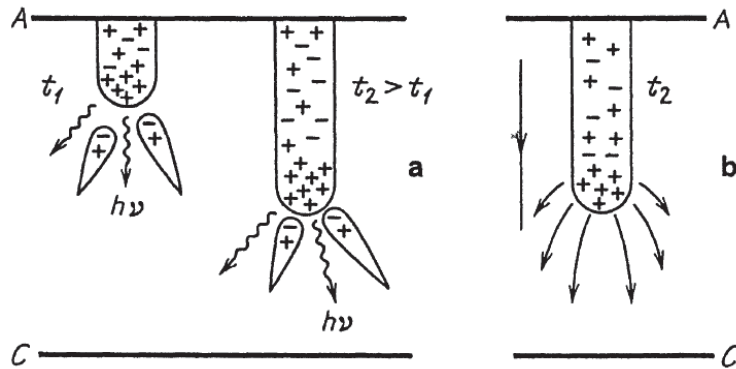


Figure 10 : Streamer se propageant vers la cathode pour a) deux temps consécutifs où les photons jouent un rôle important dans la propagation du front d'ionisation. b) représentation des lignes de champ de la tête du streamer vers la cathode.

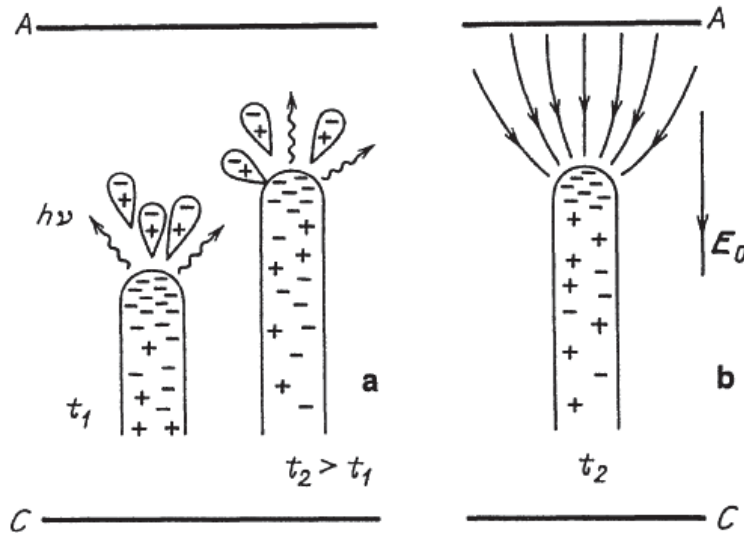


Figure 11 : Streamer se propageant vers l'anode pour a) deux temps consécutifs où les photons jouent un rôle important dans la propagation du front d'ionisation. b) représentation des lignes de champ de la tête du streamer vers l'anode.

Dans le cas du streamer positif, les électrons atteignent rapidement l'anode laissant derrière eux une nappe de cations constituant la tête du streamer (la tête est donc chargée positivement). Certains cations de la tête sont excités dut à l'avalanche électronique. Ils se désexcitent en émettant des photons suffisamment énergétiques pour ioniser des

neutres en avant de la tête du streamer. Les électrons sont alors accélérés par la somme du champ laplacien et du champ de charge d’espace vers l’anode, déclenchant une nouvelle avalanche électronique. Ils se recombinent finalement avec les ions de la tête du streamer, laissant à leur tour une nouvelle nappe d’ions positifs qui jouera le rôle de la nouvelle tête du streamer. Le phénomène se poursuit jusqu’à ce que la chute de potentiel à la tête du front soit trop faible pour que l’ionisation des neutres se poursuive, ou alors si une barrière physique empêche le front d’aller plus loin. Quant au streamer négatif, les électrons qui constituent sa tête sont accélérés dans la zone d’amplification du champ électrique, tandis qu’une partie des électrons laissées à l’arrière du front participent à la neutralisation du canal ionisé.

Un canal conducteur se forme dès que le ou les streamers atteignent les électrodes. L’évolution du plasma après le passage du ou des streamers se traduit souvent par une instabilité de courant et une transition vers un équilibre thermique. Le gaz va chauffer à cause de l’énergie cinétique cédée aux neutres lors de la recombinaison des électrons avec les ions. Cette augmentation de température induit une augmentation de la pression et provoque une expansion hydrodynamique radiale du canal selon la loi  $P = NkT$  où  $P$  est la pression du gaz,  $N$  la densité des neutres,  $k$  la constante de Boltzmann, et  $T$  la température du gaz. L’expansion radiale du canal provoque la décroissance de la densité des neutres, augmentant ainsi le champ réduit  $E/N$ . Les mécanismes d’ionisation se trouvent à nouveau amplifiés dans un canal relativement conducteur. Il en résulte une augmentation brutale du courant et une thermalisation du milieu, d’où le passage à l’arc électrique si aucune précaution n’est prise. Une décharge à barrière diélectrique (DBD) permet d’éviter le passage à l’arc électrique, le canal conducteur est dans ce cas appelé filament.

### 2.3. Techniques pour éviter le passage à l’arc

Le passage à l’arc à haute pression se traduit par une forte hausse du courant électrique dans le canal de gaz, donc une augmentation de la température du gaz. La température des neutres peut en effet atteindre 50000 K [79], [80]. Pour éviter cela, la croissance du courant peut être limitée de plusieurs manières :

- l’insertion d’une résistance au niveau du câble haute tension et d’une capacité externe aux bornes de la décharge permettent de contrôler l’énergie à injecter dans la décharge. L’ensemble capacité/résistance permet de fixer le courant et le temps caractéristique d’injection des charges dans le système. L’inconvénient d’une telle configuration est la perte d’énergie par effet Joule au niveau de la résistance ;
- l’insertion de barrières diélectriques devant au moins une des électrodes. Les barrières diélectriques sont considérées comme des condensateurs. La position et la taille de la

barrière peut être différente selon la géométrie de la décharge ou selon l'application visée. Ce type de décharge se nomme « décharges à barrière diélectrique » ou DBD. Il faut cependant prendre garde à ne pas travailler avec des tensions trop élevées car le diélectrique peut ne plus agir comme un matériau isolant. L'autre inconvénient est l'accumulation des charges électriques sur la ou les barrières, provoquant l'apparition d'un nouveau champ électrique s'opposant à celui imposé par l'alimentation. Une fois que les charges déposées sont suffisamment nombreuses, ces deux champs électriques s'annulent, entraînant l'extinction du plasma. La solution à ce problème réside dans l'utilisation de tensions alternatives (sinusoïdales) ou pulsées ;

- les tensions pulsées permettent de couper la tension avant que le courant augmente brutalement. La durée des impulsions est relativement courte, de l'ordre de la centaine de nanosecondes jusqu'à la centaine de microsecondes. Entre chaque impulsion le système redescend dans un état d'équilibre. L'effet mémoire, témoignant d'un canal contenant encore les traces du passage du précédent plasma, peut survenir si les impulsions sont trop longues ou trop rapprochées. Il faut donc gérer ces deux paramètres de manière à éviter le passage à l'arc ;

- la tension joue un grand rôle dans la création et la propagation du streamer dans l'air. La courbe de Paschen nous indique que plus la géométrie de la décharge est grande, plus la tension de claquage du gaz considéré doit être grande. A haute pression, de telles tensions peuvent permettre de passer à l'arc, en rendant conducteur les diélectriques servant initialement à minimiser le courant dans la décharge. Pour contrer ce problème il suffit de réduire les dimensions de la source plasma, la tension de claquage s'en verra ainsi diminuée, réduisant le risque de passage à l'arc. C'est d'ailleurs dans cette optique que les micro-plasmas, dont la sortie du tube possède une taille de l'ordre de la centaine du micromètre, ont fait leur apparition. Ces micro-plasmas sont utilisés dans le domaine biomédical notamment.

Trois catégories de jets de plasma peuvent être distinguées. Elles sont représentées sur la Figure 12 (la position des électrodes diffère selon les auteurs) :

- les jets de plasma à double barrière diélectrique (double DBD), où aucune des électrodes n'est en contact avec le plasma, c'est la meilleure configuration possible pour éviter le passage à l'arc [81]–[83] ;
- les jets de plasma à simple barrière diélectrique (simple DBD), où l'une des électrodes est en contact avec le plasma [70], [84], [85] ;
- les jets de plasma à une seule électrode, où l'électrode de masse est absente [86]–[88].

Toutes les sources de ce travail font parties de la catégorie des doubles DBD. L'une d'entre elle est appelée « source symétrique » et correspond à la source représentée sur la Figure 12 a). La seconde source étudiée, propre à notre laboratoire, est appelée « source asymétrique » car l'électrode haute tension est enroulée autour d'un tube de diamètre plus petit que celui associé à l'électrode de masse. L'intérêt d'utiliser une telle géométrie est d'apporter une chimie réactionnelle différente de celle que l'on pourrait observer avec une source plus conventionnelle, comme la source symétrique.

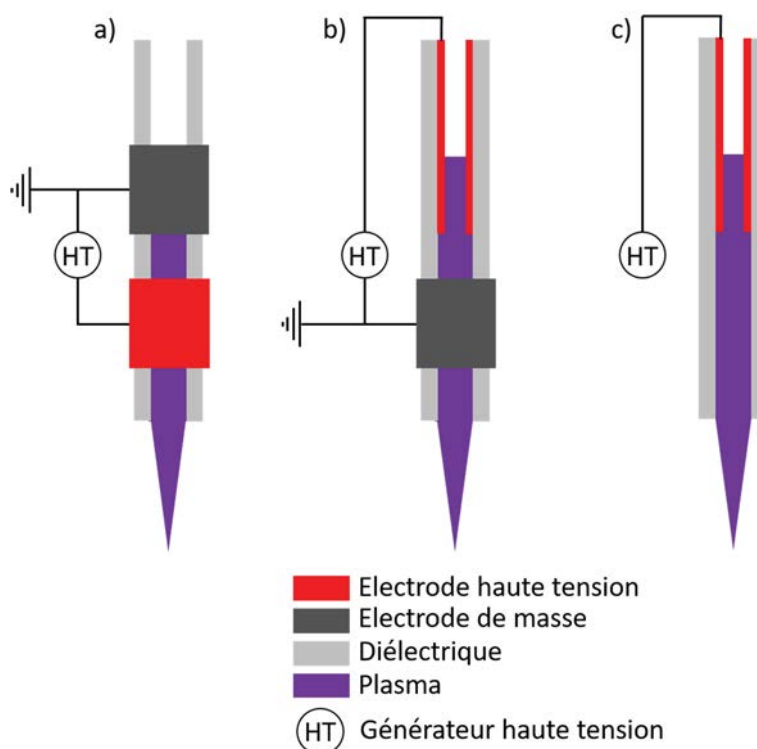


Figure 12 : Schémas de différentes sources plasma : a) double DBD, b) simple DBD et c) simple DBD à une seule électrode. Selon les laboratoires, les électrodes peuvent être interverties.

## 2.4. Utilisation d'un mélange de gaz plasmagène

Il est assez fréquent d'utiliser des jets de plasma dont le gaz plasmagène est un mélange de gaz rare et d'un autre gaz. Au premier abord cela peut paraître contre-productif car l'ajout de gaz autre que le gaz rare initial peut être à l'origine du détournement de l'énergie injectée dans la décharge, notamment en captant les électrons du plasma. De plus, l'ajout de dioxygène [89], [90], de diazote [91], [92] ou même de vapeur d'eau [93], [94] augmente le phénomène de désactivation des atomes métastable. Cependant, ces impuretés utilisées en petites quantités ( $< 1\%$ ) peuvent conférer au plasma une réactivité complètement différente par rapport à ce que donnerait le gaz rare seul. Dans notre cas, l'hélium est couplé avec du dioxygène. L'un des effets de cet ajout correspond à

l’allongement du jet de plasma par rapport au cas avec de l’hélium pur. L’explication proviendrait de la nature fortement électronégative du dioxygène. Ce dernier capte des électrons pour former l’anion  $O_2^-$  tel que [95] :



La collision avec d’autres espèces de l’air ou du gaz plasmagène, comme le dioxygène, le diazote ou l’hélium, provoque le détachement de l’électron de l’anion superoxyde. Cet électron agit ensuite comme un électron germe si son détachement est proche de la tête du streamer. Dans ce cas, la propagation du front d’ionisation est renforcée, le jet se propage plus loin dans l’air. Ceci est cependant valable pour un faible pourcentage d’ $O_2$  dans le mélange plasmagène car au-delà d’un certain seuil, la longueur du jet diminue. La désactivation des atomes devient alors trop importante au-delà de ce seuil, ce qui réduit la probabilité de créer des chocs efficaces avec les molécules de l’air [96].

En terme de réaction chimique, le principal atout reposant sur l’ajout d’ $O_2$  dans le mélange gazeux est l’augmentation de la quantité de ROS déposée en phase liquide [97], sans pour autant fortement impacter sur la quantité des espèces réactives de l’azote (reactive nitrogen species ou RNS) [98]. L’idée est d’obtenir une variété d’espèces réactives en grande quantité et d’obtenir un effet synergique sur le composant à éliminer grâce à cette diversité [70].

Le choix de l’hélium en tant que gaz rare a été conditionné par la plus grande énergie que les atomes d’hélium métastable peuvent transporter (19.8 eV), par rapport aux atomes d’argon métastable (11.5 eV) par exemple. De plus, l’utilisation de l’hélium semble amener à une plus grande variété d’espèces excitées en phase gazeuse par rapport à l’argon, probablement grâce à une plus grande efficacité de transfert d’énergie aux électrons [99]. Dans ce manuscrit, et sauf mention contraire, toute l’étude se fera avec le mélange  $He + 0.2\% O_2$ .

## 3. Interaction plasma/cible

### 3.1. Effets du plasma sur une cible liquide

Notre étude se base sur l’interaction d’un jet de plasma à pression atmosphérique avec une cible liquide dont on veut éliminer les polluants. Cette tâche est rendue complexe par le très grand nombre de paramètres qui peuvent influencer le plasma, tels que la tension, le débit, la fréquence des impulsions, etc. L’exploitation de ces paramètres engendre divers effets sur le plasma, allant de la modification de sa longueur jusqu’à sa capacité à produire des espèces réactives en grande quantité. En général, l’efficacité d’un plasma est traduite par le nombre et la variété des agents oxydants qu’il est capable de



créer. Ces agents sont les suivants : température du gaz, radiations UV/VUV, champ électrique et espèces chargées, espèces excitées, RNS et ROS. Ces agents ont des importances différentes selon la nature du polluant de l'eau à éliminer. Dans ce qui suit, ce sont principalement les cellules vivantes qui sont considérées pour évaluer les effets de ces différents agents.

### 3.1.1. Température du gaz

La température du gaz a un rôle mineur dans la mort cellulaire. Toutes les cellules ont une température de rupture qui engendre leur mort, mais en général, et c'est le cas ici, la température du jet de plasma (assimilée à la température du gaz) est proche de la température ambiante. La température de l'eau traitée est approximativement de 45 °C après 20 minutes de traitement dans les conditions les plus drastiques, ce qui ne représente pas une élévation de température très élevée pour le liquide. Il faut cependant noter que la température du liquide n'est pas forcément exactement la même que la température instantanée de la membrane de la cellule. Il existe en effet un processus nommé thermoporation qui se produit sur la surface de la cellule. Ce phénomène a lieu lors de la recombinaison entre un électron et un ion, ou lorsqu'une espèce excitée se désexcite au niveau de la membrane : une libération de chaleur instantanée et locale a lieu, provoquant des dommages réversibles ou non sur la membrane cellulaire [100], [101].

### 3.1.2. Radiations UV/VUV

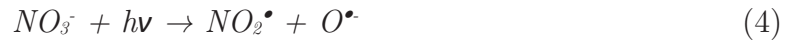
Les radiations UV/VUV ont des propriétés germicides : elles sont absorbées par l'ADN des cellules en leur infligeant des dommages plus ou moins sérieux selon la quantité et la longueur d'onde des UV/VUV en jeu. Parfois ces radiations sont à l'origine de la mort cellulaire [25], [28]. Certains hôpitaux allemands sont munis depuis plusieurs années de ce type de décharge, afin que leurs personnels soignants puissent se désinfecter les mains en quelques secondes [102] grâce aux rayonnements UV/VUV qui sont produits. L'objet de désinfection est représenté sur la Figure 13.



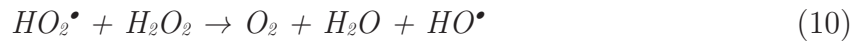
*Figure 13 : Décharges plasma (en haut et en bas de la boîte) pour la décontamination rapide des mains par radiations UV/VUV [102].*



La génération d’UV (UVC, UVB et UVA) est relativement faible et n’explique pas tous les effets bactéricides associées aux jets de plasma [103]. Par contre, ces UV vont non seulement interagir avec l’air environnant mais aussi avec la phase liquide placée sous le jet, ce qui peut induire des réactions photochimiques. Les radiations UV ayant des longueurs d’onde supérieures à 185 nm peuvent pénétrer le liquide en profondeur [104], [105], provoquant la dégradation de composés tels que les nitrites et les nitrates selon les réactions suivantes [106] :



Les nitrites et les nitrates, déposés en phase liquide grâce au plasma, peuvent donc réagir avec les UV afin de créer des hydroxydes et des radicaux hydroxyles. Toutefois, le rôle des UV ne s’arrêtent pas là car d’autres composés oxygénés peuvent interagir avec eux selon les réactions suivantes [106] :



Un équilibre entre la formation des  $HO^\bullet$  et des  $H_2O_2$  se met en place tant que le plasma est allumé. Une fois le plasma éteint, la réaction chimique principale devient la recombinaison des  $HO^\bullet$  pour former des  $H_2O_2$  telle que [106] :



### 3.1.3. Champ électrique et espèces chargées

Le champ électrique et les espèces chargées sont également des facteurs germicides majeurs impliqués dans la mort cellulaire. En effet, l’accumulation des particules chargées, créées en plus ou moins grande quantité selon la valeur du champ électrique, provoquent la perméabilisation de la membrane de la cellule lorsque la force électrostatique devient trop grande face à la tension de surface de la membrane : c’est l’électroporation [107], [108]. Cette technique permettant de créer des pores dans des cellules est d’ailleurs largement utilisée sans avoir recours aux plasmas froids, puisque des champs électriques pulsés suffisent [109]. La perméabilisation de pores suggère deux

applications possibles, l'une reposant sur la modification du code génétique de la cellule en y faisant rentrer de l'ADN ou des espèces chimiques, l'autre reposant sur l'extraction du contenu cellulaire dans le but d'inactiver la cellule, telles que représentées sur la Figure 14.

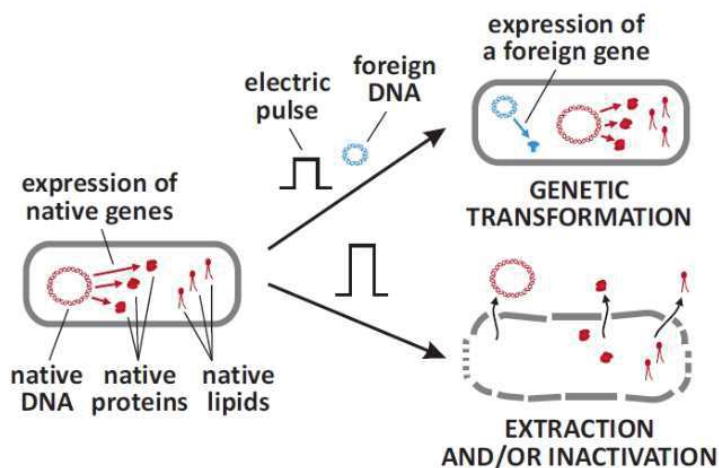


Figure 14 : Schéma simplifié de l'électroporation d'une cellule après application d'un champ électrique, amenant à l'extraction ou à l'addition de substances dans la cellule [110].

#### 3.1.4. Les espèces excitées

Les espèces excitées sont généralement situées en phase gazeuse, là où le plasma interagit avec le gaz environnant. Les transferts énergétiques entre les électrons, le gaz de la décharge et le gaz de l'air environnant permet de produire une grande quantité d'espèces excitées. Dans le cas d'un plasma d'hélium, ce sont les atomes d'hélium métastables qui sont, avec les électrons, les principaux vecteurs de l'énergie du plasma. L'énergie qu'ils peuvent emmagasiner (19.8 eV) permet d'ioniser une grande partie des molécules/atomes que ces métastables rencontrent [111], [112]. De plus, comme mentionné plus tôt, les espèces excitées en phase liquide peuvent engendrer des phénomènes de thermoporation au niveau des membranes cellulaires.

#### 3.1.5. Les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (RONS)

Les espèces réactives représentent le facteur principal conférant au plasma son caractère oxydant. Leur nature fortement oxydante explique en grande partie le caractère antiseptique du plasma [113] mais ne se résume pas qu'aux cellules du vivant. En effet, d'autres polluants de l'eau peuvent être affectés. Les RONS sont générés dans des quantités définies principalement par le type de décharge, sa géométrie, le gaz environnant le plasma et le gaz injecté la décharge. Dans le cas de notre configuration (jet de plasma à pression atmosphérique généré dans un mélange hélium/oxygène) les ROS tels que  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{O}_3$ ,  $\text{O}_2^-$ ,  $\text{HO}^\bullet$  et les RNS tels que  $\text{NO}^\bullet$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{ONOO}^-$ , sont créés

en quantités relativement importantes en phase gazeuse, puis sont déposées en phase liquide en passant par l'interface liquide/gaz où les espèces changent d'état, comme le montre la Figure 15.

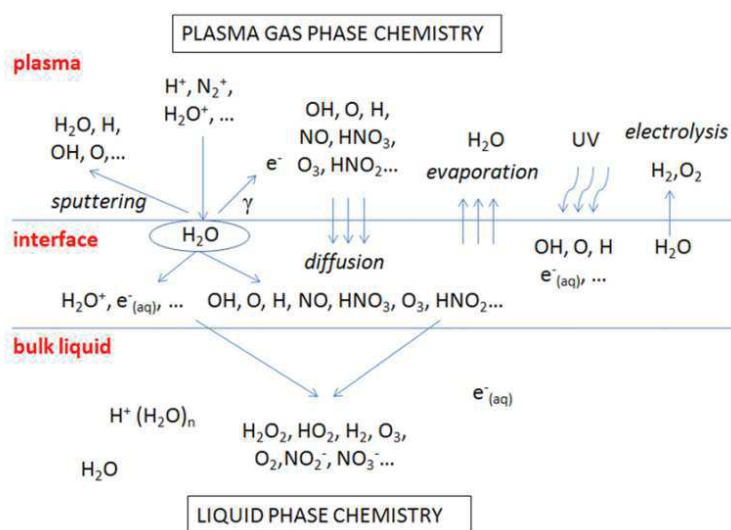


Figure 15 : Schéma général des transferts des espèces chimiques à l'interface plasma/liquide [114].

Les RONS peuvent être classés en deux catégories : les espèces à longue durée de vie et les espèces à courte durée de vie. Les premières comprennent des espèces telles que  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  et  $\text{O}_3$ . Les espèces à courtes durée de vie regroupent les espèces radicalaires, voire ioniques, telles que  $\text{NO}^\bullet$ ,  $\text{O}_2^\bullet$  et  $\text{HO}^\bullet$ . A titre d'exemple,  $\text{NO}^\bullet$  a de bonnes propriétés lipophiles, et grâce à sa petite taille il peut traverser la membrane biologique des cellules [115], c'est donc un très bon germicide. Il est à l'origine de la création de la plupart des autres RNS, d'où l'importance de sa génération en phase liquide [115]. De plus, les  $\text{NO}_2^-$  sont de très bon oxydants et participent à la formation des NO moléculaires sous des conditions acides [115].

### 3.1.6. Bilan des agents oxydants générés par le jet de plasma

L'intérêt principal des jets de plasma repose sur le vaste panel d'agents oxydants qu'ils sont capables de générer. L'ajout d'une cible sous le jet de plasma (qu'elle soit de nature solide, liquide ou même gazeuse) permet de modifier ses propriétés physiques et chimiques. Dans les exemples énoncés précédemment, nous nous intéressions à la réponse d'une cellule vivante face à aux agents oxydants générés par le plasma. L'une des forces des jets de plasma repose sur l'absence de sélectivité de ces agents vis-à-vis des espèces à éliminer, qu'elles soient vivantes (microorganisme, virus, etc.) ou non (colorant, médicament, herbicide, etc.). Dans les deux cas ce sont surtout les RONS qui ont un rôle à jouer. Les autres agents oxydants occupent des rôles un peu plus secondaires, même si, du point de vue de la cellule par exemple, la perméabilisation des membranes cellulaires

grâce à l'électroporation ou à la thermoporation permettent de considérablement augmenter les chances de rendre l'attaque des RONS plus efficace.

### 3.2. Effets de la présence d'une cible sur le jet de plasma

La réponse du plasma lorsque celui-ci est en contact avec une cible est très complexe à définir de manière précise. La position de la cible, sa conductivité ou encore son lien à une éventuelle masse électrique, engendre une multitude de cas à étudier tant le plasma réagira différemment. Dans notre cas, nous pouvons facilement voir à l'œil l'influence d'une masse électrique sous le liquide à traiter : l'intensité des émissions des espèces excitées du plasma augmente avec la fermeture du circuit électrique, par rapport au cas où la cible est flottante. En ce qui concerne la conductivité de la cible, selon sa valeur, elle permettra de renforcer ou non, le champ électrique axial le long de la décharge [116]. Plusieurs effets physiques au niveau du plasma sont évoqués lors de l'ajout d'une cible sous le plasma par rapport au cas sans cible (freejet).

#### 3.2.1. Champ électrique

Le champ électrique peut être mesuré en un point du jet de plasma par plusieurs méthodes communément utilisées dans le domaine des plasmas froids à pression atmosphérique.

L'une de ces méthodes consiste à utiliser la polarisation Stark sur des raies d'hélium [117]. Plusieurs de ces raies peuvent être utilisées pour mesurer le champ électrique : 492.1 nm, 447,1 nm et 402.6 nm par exemple [117], [118]. La raie choisie importe peu, c'est donc la plus intense qui doit être préférée pour maximiser les chances d'observer correctement la polarisation Stark [118].

Le principe est le suivant : lors de l'apparition d'un champ électrique, les raies ont tendance à s'éloigner, signe que la polarisation Stark apparaît. Les raies d'hydrogène et d'hélium sont particulièrement sensibles aux champs électriques du fait du faible nombre d'électrons que ces espèces possèdent. Lorsqu'un champ électrique est appliqué, trois sous-niveaux apparaissent pour chacune de ces raies ( $\sigma^-$ ,  $\sigma^+$ ,  $\Pi$ ). Le sous-niveau  $\Pi$  peut par exemple être isolé en utilisant un polariseur positionné sur le chemin optique entre le plasma et l'entrée du spectromètre optique. Considérons le niveau  $\Pi$  de la raie d'hélium à 447.1 nm. Lorsqu'un champ électrique est appliqué, trois raies, plus ou moins fusionnées selon l'intensité du champ électrique, seront visibles sur le spectre : une raie dite « autorisée », une raie « interdite », et une raie correspondant au « field free » (noté ff) telles que représentées sur la Figure 16.

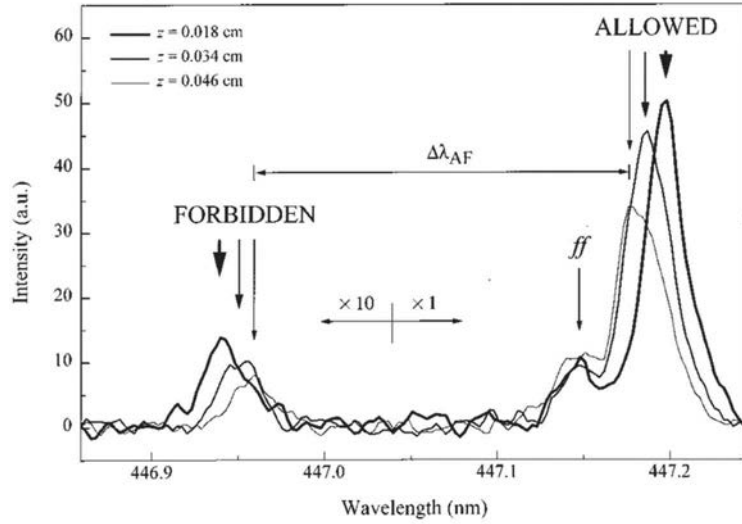


Figure 16 : Déplacement spatial des trois composantes de la raie d’hélium initialement à 447.1 nm, sous l’effet d’un champ électrique par polarisation Stark [118].

La déconvolution de l’ensemble des raies observées est ensuite réalisée afin de faire apparaître distinctement les trois composantes de la raie d’hélium. Le déplacement spatial entre la longueur d’onde de la raie autorisée et celle de la raie interdite (généralement de l’ordre du dixième de nanomètre) est directement relié au champ électrique appliqué au point observé. Il est ensuite nécessaire de se référer à une table reliant ce déplacement avec la valeur du champ électrique, afin d’obtenir le champ électrique appliqué au point considéré [119]. La principale limitation de cette méthode repose sur la nécessité d’utiliser un spectromètre optique de bonne résolution spectrale.

Grâce à cette technique, il a été montré que plus la cible se rapproche du jet de plasma, plus le champ électrique le long du canal de gaz se renforce, tel que montré sur la Figure 17. A l’inverse, plus la cible s’éloigne de la source plasma, moins la cible a d’influence sur le jet de plasma, comme on pourrait l’observer dans le cas freejet.

En particulier, à l’approche de la surface de la cible, le champ électrique peut facilement doubler par rapport à sa valeur en freejet au même point. Il a cependant été montré que dans le cas d’un débit élevé, les champs électriques entre les cas sans et avec cible se rapprochent [120]. En effet, comme la diminution du débit provoque une augmentation des échanges hydrodynamiques entre le plasma et l’air, les lignes de potentiel électrique ont tendance à se rapprocher [120]. La pureté du canal de gaz rare est donc directement reliée au champ électrique car un plasma possédant plus d’impureté nécessite un champ électrique plus intense pour se développer.

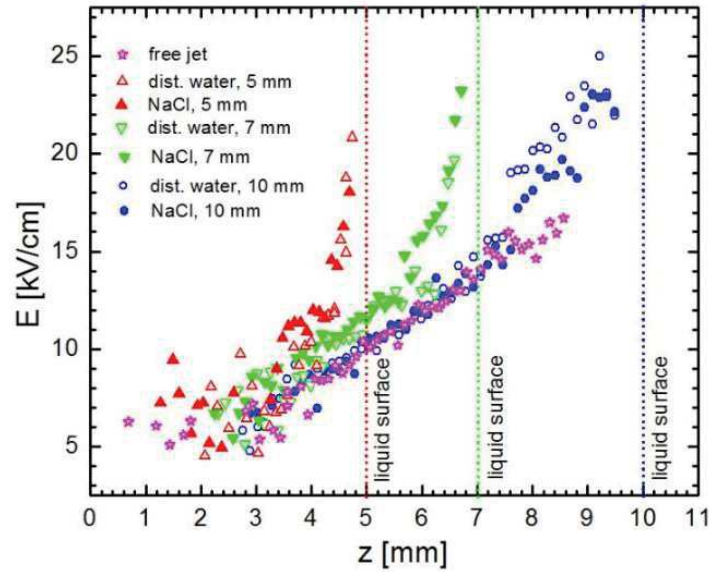


Figure 17 : Intensité du champ électrique en fonction de la position dans la plume lorsque le liquide est située à 5, 7 et 10 mm, ou dans le cas freejet [117].

Une autre méthode pour mesurer le champ électrique en un point du plasma repose sur l'utilisation de l'effet Pockels grâce à un cristal électro-optique tel que le BSO ( $\text{Bi}_{12}\text{SiO}_{20}$ ). Le dépôt de charges électriques sur la surface du cristal provoque une biréfringence du cristal se traduisant par le changement d'indice de réfraction selon un de ses axes. Cet effet apparaît uniquement lorsque des charges impactent le cristal, d'où l'apparition d'un champ électrique à leur voisinage. Un laser est envoyé dans le cristal pour observer son changement de polarisation, dépendant directement du champ électrique appliqué. Une société française du nom de « Kapteos » utilise l'effet Pockels dans leurs sondes électro-optiques non invasives, qu'il faut approcher du jet de plasma pour obtenir des informations sur les valeurs radiales et longitudinales du champ électrique [121].

La comparaison entre le cas freejet et le cas avec une cible en cuivre à 1 cm de la sortie de la source, telle que représentée sur la Figure 18, met en avant une variation du champ électrique suggérant qu'un autre phénomène apparaît lorsqu'une cible conductrice est traitée : un rebond de l'onde d'ionisation dans le canal de gaz.

Le champ électrique possède plusieurs extrema locaux suggérant que les émissions du plasma s'intensifient à intervalle régulier, signe qu'un rebond de l'onde d'ionisation est observé. Ce sera l'objet d'une discussion plus tard dans ce travail.

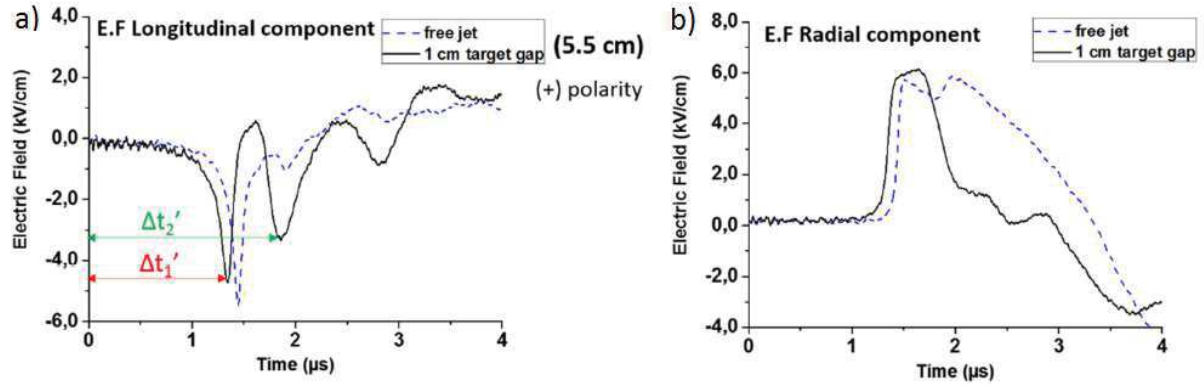


Figure 18 : Intensité du champ électrique a) longitudinal et b) radial en un point fixe dans le tube, dans le cas où la cible métallique est à 1 cm de la source et dans le cas freejet [121].

### 3.2.2. Strioscopie (suivi de l'écoulement d'un gaz)

La strioscopie (« Schlieren » en allemand) permet de suivre l'écoulement d'un gaz grâce aux variations des indices de réfraction entre l'air environnant et le gaz injecté dans la décharge. Le principe de cette technique repose sur la réfraction de la lumière suite au changement d'indice induit par le milieu sondé. L'expérience consiste en une lampe qui éclaire la zone de l'écoulement dont on veut suivre l'évolution. Certains faisceaux lumineux sont réfractés par le milieu avant d'être collectés par une caméra. Des zones plus ou moins sombres apparaissent, indiquant des gradients d'indices de réfraction au niveau du mélange du gaz plasmagène et de l'air.

Cette technique a notamment pu mettre en évidence le renforcement de l'écoulement du gaz lorsque le plasma est allumé, par rapport au cas sans plasma, grâce à la force électrodynamique induite par le champ électrique créé par le jet de plasma [122]. Il a également été démontré qu'une cible en cuivre reliée à la masse permet d'attirer le flux de gaz jusqu'à la cible, contrairement au cas où la cible est à un potentiel flottant, comme représenté sur la Figure 19.



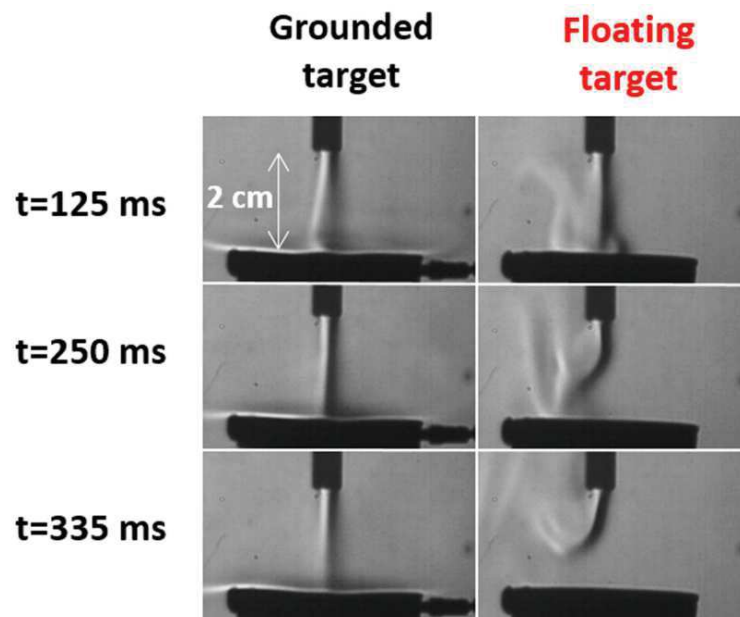


Figure 19 : Influence de la mise à la masse de la cible sur l'écoulement du gaz et sur le jet de plasma [122].

L'ajout d'une cible liquide sous le plasma engendre là aussi une modification sur l'écoulement du gaz. Des tourbillons aux alentours de la surface du liquide ont pu être observés, comme l'indique la Figure 20.

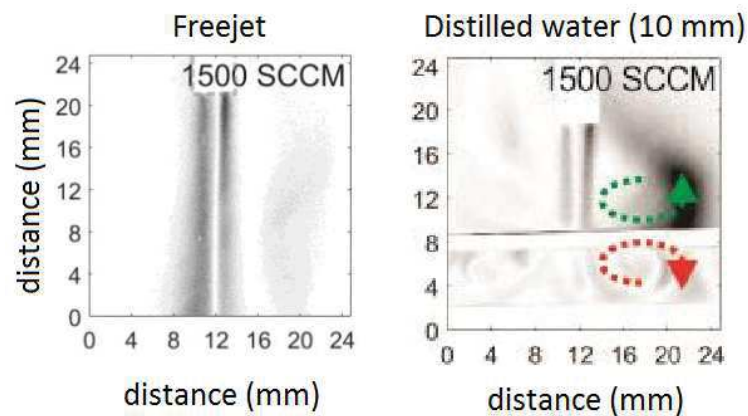


Figure 20 : Images de strioscopie du jet de plasma avec et sans cible liquide [122].

L'apparition de tels tourbillons indiquent des phénomènes de turbulence juste au-dessus de la cible liquide, à l'origine d'un meilleur mélange entre l'air et le plasma. Ces phénomènes sont très importants à comprendre car ils sont à l'origine d'un meilleur échange d'énergie entre le plasma et l'air environnant, provoquant ainsi la production d'une plus grande quantité de RONS en phase gazeuse, avant d'être déposés en phase liquide.



### 3.2.3. Bilan de la rétroaction de la cible sur le jet de plasma

La rétroaction de la cible liquide sur le jet de plasma a permis de comprendre que la caractérisation du plasma en freejet ne peut pas être extrapolée à une situation où une cible est présente sous le plasma. Le fait d'imposer la présence d'un matériau en face du jet engendrera des modifications physico-chimiques sur ce dernier. Il faut donc se rapprocher le plus possible de l'application finale pour éviter de constater de gros changements entre l'expérience faite au laboratoire, et l'application en industrie ou en hôpital par exemple. De plus, la communauté des plasmiciens tend à résoudre ce problème en créant une nouvelle génération d'alimentation capable de contrôler les paramètres du jet de plasma face à diverses cibles (conductrices ou isolantes par exemple) [123], [124], ce qui pourrait s'avérer très utile notamment dans le domaine biomédical où chaque tissu humain a une conductivité propre, en plus de dépendre de son porteur.

## 3.3. Décontamination de liquide par plasma

### 3.3.1. Bactéries à Gram négatif et positif et leurs structures

La cible liquide peut contenir des microorganismes sous diverses formes que l'on cherche à éliminer en utilisant les effets biocides du jet de plasma. Cependant, ces effets biocides peuvent avoir des influences différentes selon la nature du microorganisme traité. En effet, deux catégories de bactéries sont à distinguer : les bactéries à Gram négatif et les bactéries à Gram positif. Ces noms ont été donnés car selon les caractéristiques membranaires des bactéries, l'ajout de la coloration de Gram les fera apparaître roses au microscope pour les Gram négatif, tandis qu'elles seront violettes si elles sont à Gram positif. La Figure 21 présente deux schémas simplifiés de la constitution des parois cellulaires des bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

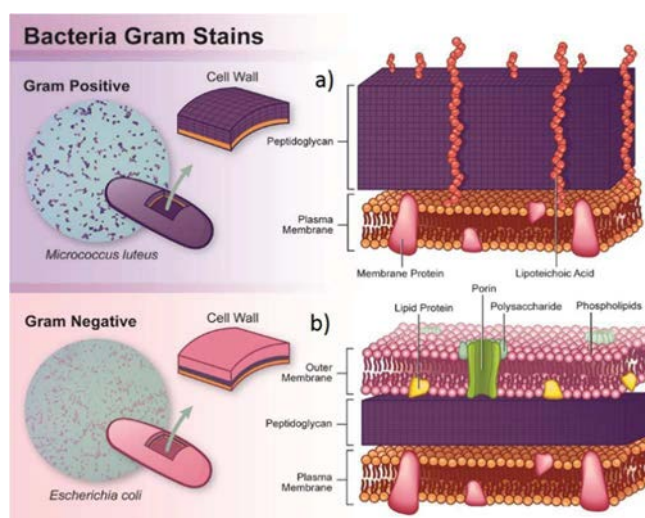


Figure 21 : Schémas simplifiés de la constitution des parois cellulaires des bactéries a) à Gram positif et b) à Gram négatif [125].

Les bactéries à Gram négatif possèdent une paroi cellulaire composée de trois couches principales : la membrane externe, le périplasme et la membrane interne. La membrane externe est spécifique aux bactéries à Gram négatif et comprend une double couche lipidique : le feuillet interne, essentiellement constitué de phospholipides, tandis que le feuillet externe contient une majorité de lipopolysaccharides [126]. Cette membrane agit comme une barrière protectrice face aux perturbations extérieures, apportant une plus grande résistance de ces bactéries face aux antibiotiques notamment [127]. Sous cette membrane est située le périplasme représentant un compartiment cellulaire aqueux, dense en protéines et plus visqueux que le cytoplasme [128]. La paroi externe du périplasme est constituée d’une fine couche de peptidoglycane formant un exosquelette déterminant la forme de la bactérie, en plus d’assurer une protection mécanique contre la pression osmotique. La délimitation du cytoplasme avec le périplasme est effectuée via la membrane plasmique constituée de lipides et de protéines, assurant des échanges, en théorie contrôlés, de substances solubles entre l’extérieur et l’intérieur de la cellule. Cette dernière membrane entoure le cytoplasme des bactéries contenant des ribosomes, des acides ribonucléiques (ARN) et plusieurs organites spécialisés.

Les bactéries à Gram positif diffèrent à plusieurs égards de leur homologue à Gram négatif. Leur membrane externe est absente : les bactéries à Gram positif ont donc une protection physique en moins en comparaison avec les bactéries à Gram négatif. De plus, les bactéries à Gram positif sont dotées d’un maillage de peptidoglycane beaucoup plus important pour maintenir leur cohésion, en remplacement de la membrane externe des bactéries à Gram négatif.

### 3.3.2. Plusieurs exemples de décontamination

La décontamination de liquide par plasma est un procédé en continu perfectionnement encore aujourd’hui comme la complexité de l’interaction entre un plasma et la cible liquide à décontaminer est de mieux en mieux comprise. Ainsi, plusieurs moyens sont mis en œuvre pour renforcer l’efficacité biocide d’une source plasma. La géométrie de la source, le gaz plasmagène, l’alimentation électrique, le type de bactérie à traiter, etc. peuvent amener à des efficacités biocides totalement différentes.

Afin d’avoir une vue d’ensemble des traitements actuellement effectués pour décontaminer des liquides, les efficacités biocides associées à des travaux portant sur la décontamination de liquide par diverses sources de plasma sont listées dans le Tableau 1. Plusieurs paramètres associés à la génération du plasma et au traitement de la cible liquide par le plasma y apparaissent.

Tableau 1 : Liste de plusieurs travaux sur la décontamination de liquides.

Référence	Type de plasma	Type d'alimentation	Gaz plasmagène	Débit (L.min <sup>-1</sup> )	Type de liquide	Volume de liquide (mL)	Bactéries	Densité initiale (CFU.mL <sup>-1</sup> )	Réduction maximale (log) (dénombrement sur gélose)	Temps nécessaire (min)
[129]	kINPen	Radiofréquence	Argon	4.9	Solution saline (0.85 %)	6	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10 <sup>7</sup>	7	15
[130]	DBD	Pulsée	Air ambiant	/	Tampon phosphate salin (PBS)	0.065	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10 <sup>6</sup>	6	0.5
[131]	DBD	Pulsée	Air ambiant	/	Tampon phosphate salin (PBS)	0.1	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10 <sup>7</sup>	7	2.5 (+ 24h de stockage)
[132]	Jet	Pulsée	99% He + 1% O <sub>2</sub>	2	Tampon phosphate salin (PBS)	1	<i>Escherichia coli</i> CIP 53126	10 <sup>6</sup>	6	2.5 (+ 3h de stockage)
[133]	Micro-décharge de surface	Sinusoidale	Air ambiant	/	Tampon Tris saline (TBS)	0.02	<i>Escherichia coli</i> ATCC 9637	10 <sup>6</sup>	6	6
[73]	DBD	Pulsée	80% N <sub>2</sub> + 20% O <sub>2</sub>	2.5	Tampon phosphate salin (PBS)	900	<i>Escherichia coli</i> CCM 3954	10 <sup>5</sup>	4	7
[134]	Jet	Pulsée	80% N <sub>2</sub> + 20% O <sub>2</sub>	1	Solution saline (0.85 %)	1	<i>Propionibacterium acnes</i> KCTC 3314	10 <sup>7</sup>	7	10
[84]	Jet	Sinusoidale	97% He + 3% O <sub>2</sub>	2	Eau déionisée	2	<i>Staphylococcus aureus</i>	10 <sup>7</sup>	3	3

### 3.3.3. Bilan des études portant sur la décontamination de liquide

L’interaction entre les agents oxydants apportés par le plasma et les microorganismes est rendue complexe notamment par le grand nombre de paramètres en lien avec la création du plasma ou avec le traitement, chacun influençant la décontamination du liquide. C’est dans ce but qu’une multitude de sources plasma ont vu le jour, de manière à optimiser le traitement des bactéries, de préférence en améliorant la vitesse de la décontamination de l’eau. La tâche est rendue difficile par la constitution des bactéries, comme elle peut différer d’un microorganisme à un autre selon sa coloration de Gram. Un autre paramètre est alors à comptabiliser lors des traitements : le type de bactérie traitée.

## 4. Conclusion

Au cours de ce chapitre, le contexte de l’étude a été introduit en rappelant plusieurs technologies capables de dépolluer ou de décontaminer un liquide. La sélectivité de ces technologies vis-à-vis de la nature du polluant les rend peu efficaces si la cible liquide en contient plusieurs comme des médicaments, des herbicides ou encore des bactéries. Il y a donc un réel besoin d’utiliser une nouvelle technologie, en complément de celles déjà mises en place comme les stations d’épuration, capable de cumuler plusieurs agents oxydants pour représenter un moyen de dépollution non sélectif donc possiblement plus efficace.

La seconde partie a permis d’introduire la place des plasmas dans le monde actuel grâce à ses nombreuses applications possibles. Les mécanismes à l’origine de sa création et de son maintien ont été définis.

L’interaction entre le jet de plasma et une cible à traiter a été développée afin de mettre en évidence des interactions fortes entre le plasma et le liquide. Le jet de plasma influence bien évidemment sur la cible à traiter, en apportant des agents oxydants capable de la modifier (espèces réactives, champ électrique, espèces chargées, etc.), tandis que la cible agit grandement sur le jet de plasma. Dans ce dernier cas, plusieurs diagnostics ont permis de révéler une partie de cette influence sur les caractéristiques physique du plasma, tels que le champ électrique (polarisation Stark et effet Pockels) et l’écoulement du gaz (strioscopie).

Enfin, la composition des parois cellulaires des bactéries à Gram négatif et positif a permis de montrer les différentes couches externes que ces deux types de bactéries possèdent. Plusieurs articles ayant pour objectif de décontaminer des liquides ont été répertoriés. Le but étant d’avoir une vue d’ensemble des nombreux paramètres entrant en jeu dans le processus de décontamination d’une part, et sur l’engouement actuel de la décontamination des liquides par plasma d’autre part.



## Chapitre 2 - Dispositif expérimental, diagnostics et méthodes

## 1. Introduction

Ce chapitre présente le dispositif expérimental qui nous permet de générer le jet de plasma (source, alimentation, bouteille de gaz, etc.), ainsi que tous les diagnostics et les méthodes physiques, chimiques et microbiologiques utilisés au cours de ce travail.

## 2. Dispositif expérimental

### 2.1. Sources plasma

La source plasma représente l'enceinte dans laquelle le plasma est créé. Historiquement la source associée au laboratoire DPHE est en polypropylène, ce qui n'est pas le cas des sources utilisées dans ce travail, toutes fabriquées sur mesure en verre. La raison principale expliquant le changement de la nature du matériau de la source repose sur la volonté de réduire les impuretés issues du plastique chauffé, capables de perturber le plasma (les atomes d'hélium métastables sont notamment très sensibles à la présence d'impureté). Le choix du verre repose sur son caractère isolant, ainsi que sur sa propension à ne pas être modifié par le plasma dont la température, à l'intérieur de la source, peut atteindre une centaine de degré.

Deux types de sources ont été utilisés dans ce travail :

- une source appelée « source asymétrique » qui est constituée d'un tube autour duquel l'électrode haute tension est enroulée, ainsi que d'un réservoir de plus large diamètre relié à la masse.
- une source appelée « source symétrique » qui est uniquement constituée d'un long tube de diamètre constant, autour duquel sont positionnées les deux électrodes à la même hauteur que celles de la source asymétrique.

Les dimensions de ces deux sources sont représentées sur la Figure 22. Dans les deux cas, l'électrode de masse est positionnée en haut de la source, alors que l'électrode haute tension est en bas. Un joint d'étanchéité en caoutchouc est situé à l'extrémité supérieure de la source permettant d'insérer le tube amenant le gaz par le haut. Ces deux sources ont un diamètre de sortie de 3.7 mm. L'épaisseur du verre est de 2.2 mm.

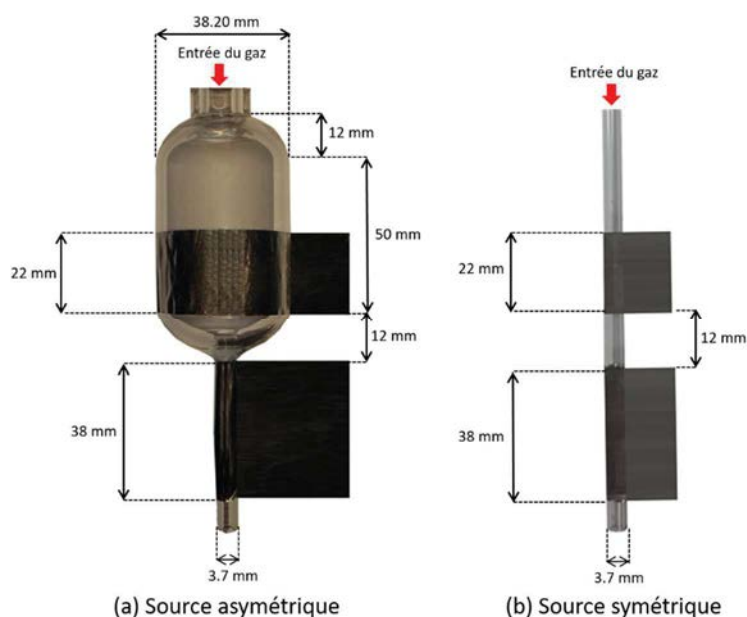


Figure 22 : Photographies des sources a) asymétrique et b) symétrique.

Les électrodes sont situées à l'extérieur des sources et sont en aluminium (3M, tape 425, épaisseur 120  $\mu\text{m}$ ). L'un des avantages de cette configuration est d'éviter le passage à l'arc, étant donné la barrière en verre séparant les électrodes du plasma. Cette décharge est donc une décharge de type double barrière diélectrique. L'autre avantage repose sur une très bonne accessibilité des électrodes s'il est nécessaire de les remplacer. Il peut en effet arriver, après plusieurs mois de manipulation, que la colle du scotch brûle légèrement sur le verre. Après avoir retiré les électrodes, la source est lavée à l'éthanol et à l'acétone pour retirer toute trace de colle. De nouvelles électrodes sont ensuite ajoutées.

Lors des mesures des atomes d'hélium métastables, deux autres sources asymétriques sont utilisées, l'une a un diamètre de sortie de 3.1 mm (moyen diamètre), et l'autre un diamètre de sortie de 1.5 mm (petit diamètre).

## 2.2. Type de gaz et son transport

Le gaz à l'origine de la création du plasma est constitué d'un mélange d'hélium (99.8000%) et de dioxygène (0.2%) (Linde). Un débitmètre massique (El-flow Select, Bronkhorst) permet de réguler le débit du gaz injecté dans la source. Sauf indication contraire, le débit est fixé à 0.5  $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ . Ce paramètre a été fixé de manière à maximiser la production d'espères réactives en phase liquide (voir chapitre 4). Les canalisations sont en acier inoxydable, d'une longueur totale de 2 mètres environ (entre la bouteille de gaz et l'entrée dans la source) afin de diminuer au maximum les impuretés qu'elles peuvent contenir.



### 2.3. Alimentation électrique

L'application d'une différence de potentiel suffisamment élevée entre les deux électrodes permet de créer un plasma à partir du gaz présent dans l'enceinte. L'alimentation est constituée d'un générateur haute tension (SR10kV-300W, Technix) capable de fournir une tension continue maximale de 10 kV, ainsi que d'un générateur d'impulsion haute tension (Nanogen1, RLC Electronic). Ce dernier permet de découper la tension issue du générateur haute tension à une fréquence pouvant aller de 1 Hz à 100 kHz. La durée des impulsions peut varier entre 150 ns et 50  $\mu$ s. Dans notre cas, la fréquence sera toujours fixée à 20 kHz (si elle est trop faible alors la production d'espèces réactives le sera également par réduction de l'effet mémoire entre deux décharges successives ; si elle est trop alors il y aura un risque de passage à l'arc). La durée des impulsions est, sauf indication contraire, fixée à 2.5  $\mu$ s (correspondant à un rapport cyclique de 5%). Ce paramètre a également été fixé de manière à maximiser la production d'espèces réactives en phase liquide (voir chapitre 4). La tension est fixée à 6 kV de manière à obtenir un plasma suffisamment énergétique pour qu'il se propage sur une distance de plusieurs centimètres dans l'air, tout en favorisant la production d'espèces réactives, et en évitant le passage à l'arc (obtenue autour de 8 kV dans notre configuration, entre le plasma et l'électrode haute tension). Les temps de montée et de descente sont égaux à 8 ns. Ces temps, relativement faibles, sont à l'origine d'une surtension de claquage importante, permettant de créer des électrons de relativement haute énergie. La production d'espèces réactives est dans ce cas renforcée, par rapport à des temps de montée et de descente plus long [135]. L'augmentation de la vitesse du front d'ionisation est également l'un des facteurs témoignant de faibles temps de montée et de descente des fronts de l'impulsion [136].

L'ensemble de la manipulation est porté à la masse (à l'arrière du générateur d'impulsion haute tension) afin d'éviter toute accumulation de charge sur les surfaces métalliques de l'expérience. Au final, la table optique, l'ordinateur, le débitmètre, la plaque de cuivre sous le cristalliseur contenant le liquide et la source (voir Figure 23) sont tous reliés à la masse du générateur.

Une cage de Faraday fabriqué avec un maillage de cuivre fin permet d'isoler l'expérience (ou les diagnostics) des ondes électromagnétiques parasites que l'alimentation et le plasma génèrent. Sa particularité repose sur son caractère souple la rendant très pratique pour isoler des objets de forme particulière. Dans certain cas, notamment quand un diagnostic utilise des câbles non blindés, la cage de Faraday est utilisée.

## 2.4. Cible traitée par le plasma

Une cible liquide, contenue dans un cristalliseur, est placée sous le jet de plasma. Ce cristalliseur peut contenir de l'eau ultra-pure (Millipore Direct-Q 3 UV Water Purification System, ThermoFisher Scientific) ou d'autres mélanges tels que de l'eau ultra-pure et un colorant, ou encore une solution saline et des bactéries. Sauf indication contraire, la distance entre la sortie de la source et la surface du liquide est fixée à 6 mm. Ce paramètre a lui-aussi été fixé de manière à maximiser la production d'espères réactives en phase liquide (voir chapitre 4). Le cristalliseur contenant le liquide est en pyrex et possède un diamètre interne de 36 mm et une hauteur de 26 mm. Le volume du liquide traité est fixé à 12 mL, excepté lors des mesures avec l'absorption laser, la spectroscopie d'émission optique et l'imagerie intensifiée où le volume du liquide est tel qu'il remplit totalement le cristalliseur (25 mL). Cette précaution est adoptée pour éviter que la lumière issue du plasma ou le faisceau laser (selon les cas) ne se propage à travers le cristalliseur.

Une plaque de cuivre (d'épaisseur 1 mm) est placée sous le cristalliseur et est reliée à la masse du système. Dans ce cas la reproductibilité des expériences est nettement améliorée par rapport au cas d'une cible au potentiel flottant. L'ajout de cette masse engendre une augmentation de l'intensité lumineuse du plasma par rapport au cas flottant.

## 3. Matériel et méthodes physiques

### 3.1. Diagnostics électriques

Des mesures électriques de la décharge ont été réalisées par le relevé de la tension à ses bornes, ainsi que par le courant qui la traverse. À partir de ces mesures, la puissance délivrée et l'énergie déposée dans le plasma peuvent être déterminées. Cette partie présente le matériel ainsi que les méthodes utilisées pour mesurer ces grandeurs. La Figure 23 présente le schéma simplifié du montage utilisé lors de la mesure du courant et de la tension de la décharge.

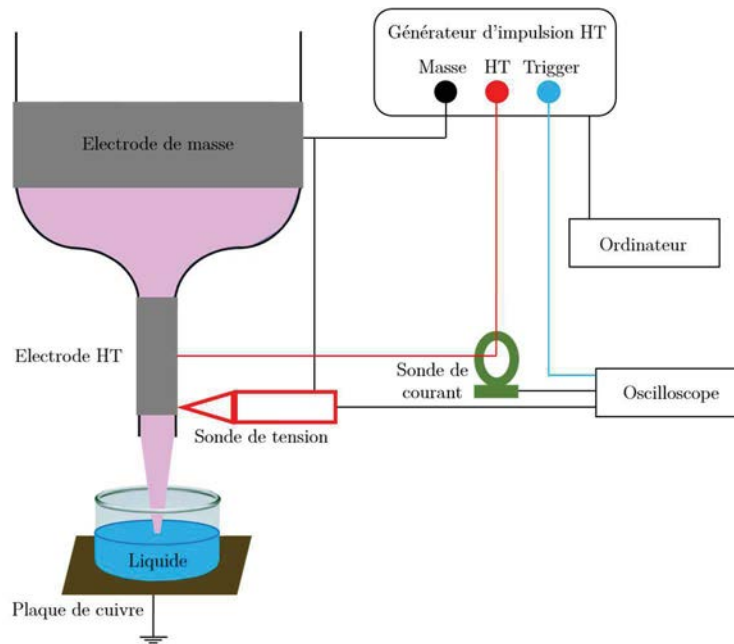


Figure 23 : Schéma du dispositif expérimental pour effectuer les mesures électriques.

### 3.1.1. Oscilloscope

L'oscilloscope utilisé (Tektronix, TDS7254 Digital Phosphor) a une bande passante de 2.5 GHz et une fréquence d'échantillonnage maximale de 20 GS.s<sup>-1</sup>. Il possède quatre voies d'entrées dont les impédances sont toutes de 50 Ω. Deux de ces voies sont utilisées pour mesurer la tension et le courant.

### 3.1.2. Sonde de tension

La sonde haute tension (Tektronix P6015A) peut mesurer des tensions allant jusqu'à 20 kV en valeur efficace. Sa bande passante est de 75 MHz, sa capacité est de 3 pF et elle possède un coefficient d'atténuation de 1000. Un adaptateur (Tektronix, TCA-1MEG) ayant une bande passante de 500 MHz, permet d'adapter l'impédance d'entrée d'une voie de l'oscilloscope pour l'élever à 1 MΩ, comme la sonde de tension le requiert. En plus de modifier l'impédance de la sonde de tension, il atténue d'un facteur 10 le signal observé à l'oscilloscope. Il est donc nécessaire de multiplier par 10000 le signal de tension mesuré à l'oscilloscope.

Cette sonde est branchée en parallèle de la décharge, entre l'électrode haute tension et l'électrode de masse de la source. La Figure 24 présente une mesure de tension de la décharge sur deux périodes et en zoomant sur le front montant de l'impulsion, avec la source asymétrique lorsque le plasma est allumé.

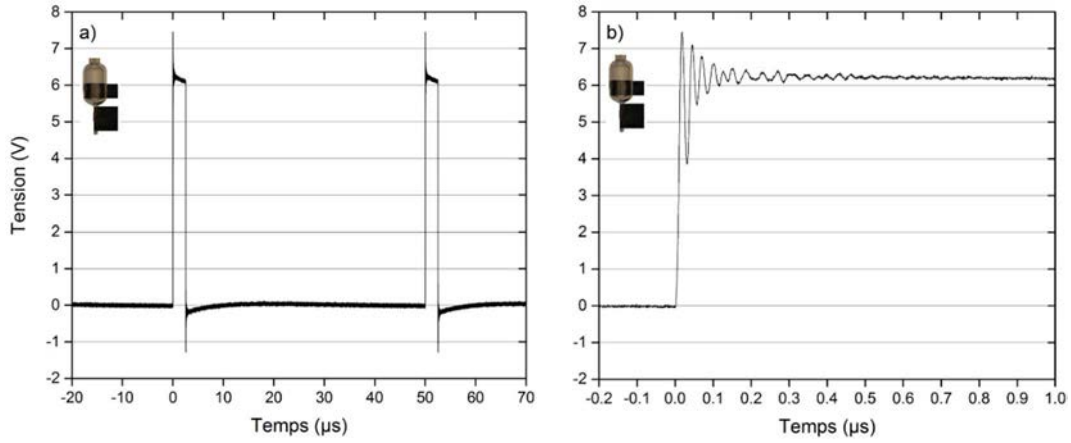


Figure 24 : Signal de tension mesuré aux bornes de la décharge pour une tension de 6 kV et une durée d'impulsion de 2.5  $\mu$ s quand le plasma est allumé (source asymétrique) : a) sur deux périodes, b) zoom sur le front montant de l'impulsion.

### 3.1.3. Sonde de courant

La sonde de courant (Pearson Electronics, modèle 6585) fonctionne selon le principe de l'enroulement de Rogowski. Elle entoure le câble provenant du générateur fournissant la haute tension connectée à l'anode de la source, induisant une tension proportionnelle à la dérivée du courant. Un circuit d'intégration permet de fournir un signal de tension proportionnel au courant (gain de 1 volt par ampère). La plage de fréquence d'utilisation de cette sonde est comprise entre 400 Hz et 200 MHz environ. Elle peut mesurer un courant efficace allant jusqu'à 10 A et son impédance d'entrée est de 50  $\Omega$ . Un atténuateur, identique à celui utilisé pour la sonde de tension, est utilisé pour diminuer d'un facteur 10 le signal de courant afin qu'il puisse s'afficher dans son intégralité à l'oscilloscope. La Figure 25 présente une mesure de courant de la décharge sur deux périodes et en zoomant sur le front montant de l'impulsion, avec la source asymétrique lorsque le plasma est allumé.

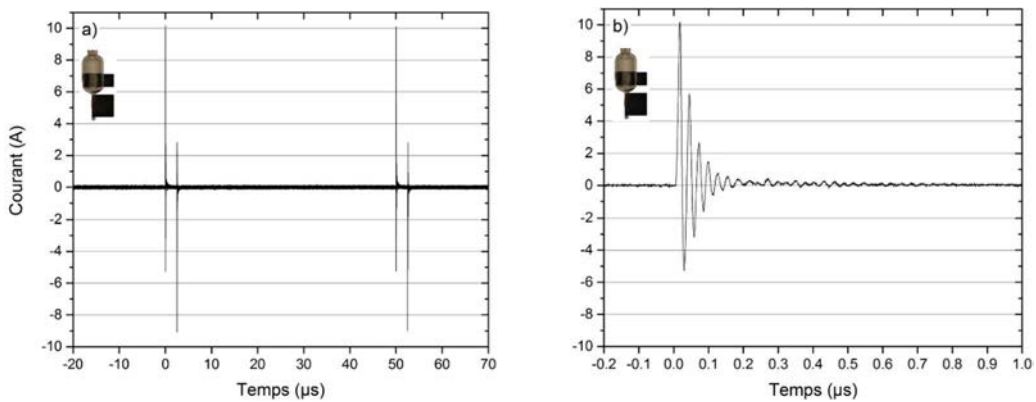


Figure 25 : Signal de courant mesuré aux bornes de la décharge pour une tension de 6 kV et une durée d'impulsion de 2.5  $\mu$ s (source asymétrique) : a) sur deux périodes, b) zoom sur le front montant de l'impulsion.

### 3.1.4. Mesure de l'énergie déposée dans la décharge

Les signaux issus des sondes de tension et de courant permettent de calculer l'énergie déposée dans la décharge. Or, à cause des délais que provoquent les sondes (temps de réponse des sondes et longueurs des câbles différentes), un décalage de plusieurs nanosecondes apparaît entre le signal de la tension et le signal du courant. La Figure 26 montre le décalage qu'il y a entre ces deux signaux.

La tension devance temporellement le signal de courant de plusieurs nanosecondes. On ne peut donc pas calculer la puissance ou l'énergie déposée tant que ce décalage existe. C'est pourquoi nous avons utilisé une méthode expérimentale capable de déterminer avec précision la valeur de ce délai. Tout d'abord, des mesures de la tension et du courant sont effectuées à 6 kV sans l'ajout du gaz plasmagène (le plasma ne s'allume donc pas).

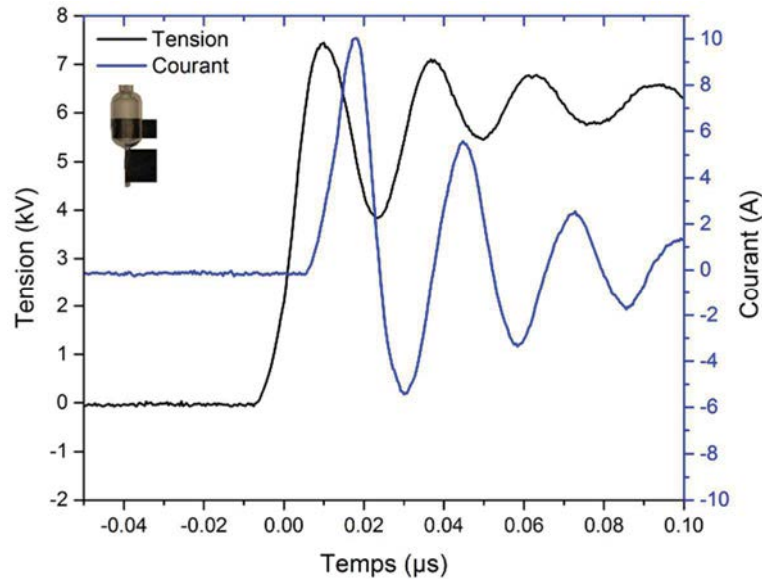


Figure 26 : Décalage entre les signaux de tension et de courant pour une tension de 6 kV et une durée d'impulsion de 2.5  $\mu$ s (source asymétrique).

L'air dans la source agira donc comme un condensateur de capacité  $C_{eq}$ . Ainsi la relation entre le courant et la tension peut s'écrire :

$$i(t) = C_{eq} \frac{\partial u(t' + \Delta\tau)}{\partial t'} \quad (12)$$

Où le courant est noté  $i(t)$ , la tension est notée  $u(t')$ , et  $\Delta\tau$  le délai entre  $t$  (base de temps du courant) et  $t'$  (base de temps de la tension). Le but est de décaler la dérivée temporelle du signal de tension par rapport à celui du courant de manière à superposer au mieux les premières oscillations. La Figure 27 représente le décalage temporel entre la dérivée temporelle du signal de tension et le signal de courant. Le décalage temporel est ici égal à 8 ns, ce qui n'est pas négligeable sachant que le temps de montée de l'impulsion est lui aussi égal à 8 ns.

A ce stade nous ne pouvons pas directement déduire l'énergie déposée dans la décharge car le courant mesuré, ou courant total, est la somme du courant de décharge et du courant capacitif. Le courant de décharge s'obtient en soustrayant le courant capacitif (mesuré lorsque le plasma est éteint, dans notre cas quand le gaz rare ne s'écoule plus dans la source) au courant total (mesuré lorsque le plasma est allumé). Ainsi, après avoir décalé manuellement le signal de tension par rapport au signal de courant et mesuré le courant de décharge, nous pouvons calculer la puissance instantanée en multipliant la tension avec le courant de décharge. L'intégration de cette puissance par rapport au temps permet d'obtenir l'énergie déposée dans la décharge comme le montre la Figure 28.

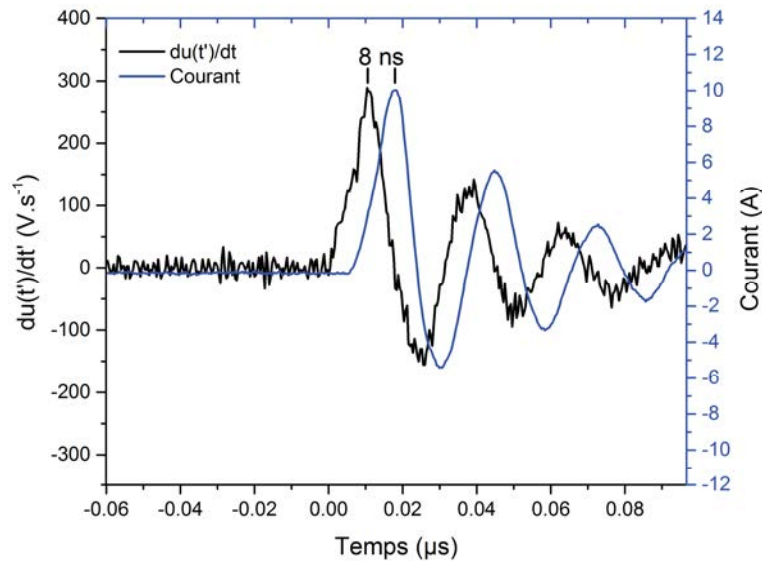


Figure 27 : Mesure du décalage temporel  $\Delta\tau$  entre le courant  $i(t)$  et la dérivée de la tension pour une tension de 6 kV et une durée d'impulsion de 2.5 μs. Le plasma n'est pas allumé (source asymétrique).

Après le front montant de l'impulsion, l'énergie déposée dans le plasma généré dans la source asymétrique pour une tension de 6 kV et une durée d'impulsion de 2.5 μs est de 0.52 mJ environ. La mesure de l'énergie déposée au niveau du front descendant est similaire à celle du front descendant, comme elle est de 0.57 mJ environ. Ainsi, l'énergie totale déposée dans le plasma de la source asymétrique après chaque impulsion est d'environ 1.09 mJ. La puissance moyenne de la décharge est également calculée par la multiplication de cette énergie déposée avec la fréquence de répétition de l'impulsion (20 kHz). Dans ces conditions, la puissance moyenne de la décharge est de 21.8 W.

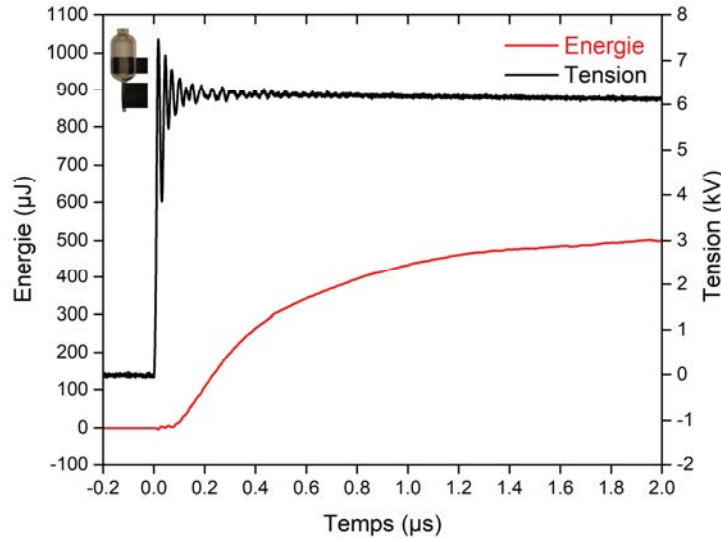


Figure 28 : Energie obtenue après le front montant de l'impulsion, suite au décalage du signal de tension par rapport au signal de courant de 8 ns, pour une tension de 6 kV et une durée d'impulsion de 2.5 μs (source asymétrique).

A titre de comparaison, l'énergie déposée dans la source symétrique est de 0.52 mJ lors du front montant, et de 0.44 mJ lors du front descendant (total = 0.96 mJ). Dans ce cas, la puissance moyenne de la décharge est de 19.2 W.

## 3.2. Spectroscopie d'absorption laser

### 3.2.1. Contexte

Les atomes d'hélium métastables He ( $2^3S_1$ ) (notés He<sup>M</sup> par la suite) sont considérés comme des réservoirs d'énergie du fait de la grande énergie qu'ils emmagasinent (une énergie de 19.82 eV [137] qui est stockée par un des deux électrons de l'atome après son déplacement de la couche 1s à la couche 2s), et de leur durée de vie relativement longue : plusieurs microsecondes dans l'hélium pur [111], théoriquement égale à 8000 secondes environ [138]. Cette différence de temps s'explique par la désactivation des He<sup>M</sup> par des impuretés (ces dernières représentent ce qui est capable de récupérer l'énergie des He<sup>M</sup>, notamment le diazote, le dioxygène, l'eau et les atomes d'hélium) présentes au sein même du jet de plasma ou dans l'air autour du plasma. En effet, plus la quantité d'impuretés augmente, plus le phénomène de désactivation des He<sup>M</sup> devient important. Dans notre cas, comme un mélange He + 0.2% O<sub>2</sub> a été utilisé, ces désactivations seront importantes, se traduisant notamment par la forte baisse des temps de vie des He<sup>M</sup>. Cependant, l'utilisation de canalisations en acier inoxydable a permis d'éliminer une majeure partie des impuretés provenant de l'air environnant qu'elles pouvaient contenir. De plus, avant chaque expérience, ces canalisations ont été chauffées pendant plusieurs minutes afin de diminuer la présence de molécules d'eau.



La production des  $\text{He}^M$  est principalement due aux collisions entre les atomes d'hélium neutres et les électrons (une des seules espèces capables d'emmagasiner 19.82 eV) :



L' $\text{He}^M$  se désexcite majoritairement par collisions avec d'autres espèces du canal de gaz et de l'air. Ce transfert d'énergie entre les états métastables et les autres espèces permet au plasma d'être le siège de la création de composés dits « réactifs ». Ces espèces réactives sont généralement composées d'azote et d'oxygène, on les nomme « Reactive Oxygen and Nitrogen Species » ou RONS. Elles attribuent un caractère oxydant au plasma, permettant des applications dans le domaine de la décontamination, comme dans le cadre de ce travail. La plupart de la désactivation des  $\text{He}^M$  est dû aux espèces  $\text{N}_2$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  et  $\text{He}$ . Quelques réactions (à 2 et à 3 corps) ainsi que leurs constantes associées (à 300 K et à la pression atmosphérique) sont reportées dans le Tableau 2.

*Tableau 2 : Liste des réactions chimiques capable de désactiver les  $\text{He}^M$  ( $T_{\text{gaz}} = 300 \text{ K}$  et pression atmosphérique).*

Réaction	Constante de vitesse	Référence
$\text{He}^M + \text{N}_2 \rightarrow \text{He} + \text{N}_2^+ + e$	$3.8 \cdot 10^{-11} \text{ cm}^3 \text{ s}^{-1}$	[139]
$\text{He}^M + \text{N}_2 + \text{He} \rightarrow \text{He} + \text{N}_2^+ + e$	$1.65 \cdot 10^{-30} \text{ cm}^6 \text{ s}^{-1}$	[139]
$\text{He}^M + \text{O}_2 \rightarrow \text{He} + \text{O}_2^+ + e$	$2.54 \times 10^{-10} \text{ cm}^3 \text{ s}^{-1}$	[112]
$\text{He}^M + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{He} + \text{OH}^+ + \text{H} + e$	$1.5 \times 10^{-10} \text{ cm}^3 \text{ s}^{-1}$	[112]
$\text{He}^M + \text{He}^M \rightarrow \text{He}_2^+ + e$	$2.03 \times 10^{-9} \text{ cm}^3 \text{ s}^{-1}$	[112]
$\text{He}^M + \text{He}^M \rightarrow \text{He} + \text{He}^+ + e$	$8.7 \times 10^{-10} \text{ cm}^3 \text{ s}^{-1}$	[112]
$\text{He}^M + 2\text{He} \rightarrow \text{He}_2^* + \text{He}$	$1.9 \times 10^{-34} \text{ cm}^6 \text{ s}^{-1}$	[139]
$\text{He}^M + e \rightarrow \text{He}^*(1^1S) + e$	$2.9 \times 10^{-9} \text{ cm}^3 \text{ s}^{-1}$	[139]

Connaître la densité et la répartition des  $\text{He}^M$  dans le jet de plasma fournit des informations sur la quantité de RONS que le jet de plasma est capable de produire en phase gazeuse, en plus de connaître où cette production a majoritairement lieu.

### 3.2.2. Théorie

La spectroscopie d'absorption laser est une technique capable de déterminer la densité absolue d'une espèce en phase gazeuse en lui envoyant un rayonnement qu'elle sera capable d'absorber. La valeur de la transmission du laser à travers le milieu absorbant



permet de déduire la densité absolue de l'espèce qui absorbe le long de la ligne de visée du laser, moyennant plusieurs étapes de post-traitement. A ce stade, une inversion d'Abel peut être effectuée (si le milieu absorbant a une symétrie cylindrique, ce qui est le cas ici) pour obtenir la densité de l'espèce sondée localement dans le jet.

Un laser accordable en longueur d'onde (DL 100 DFB Toptica) a été utilisé afin de fournir des photons dont la longueur d'onde peut varier entre 1081.05 et 1084.50 nm. Cette plage de longueur d'onde permet de scanner les composantes des transitions  $2^3S_1 \rightarrow 2^3P_{0,1,2}$  de l'hélium, où le niveau  $2^3S_1$  correspond au niveau métastable de l'hélium noté jusqu'ici  $\text{He}^M$ . Les longueurs d'onde de ces trois transitions ainsi que leurs caractéristiques énergétiques sont données dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Caractéristiques des transitions  $2^3S_1 \rightarrow 2^3P_{0,1,2}$  de l'hélium d'après [137].

Longueur d'onde (nm)	Niveau bas $\rightarrow$ Niveau haut	$E_{\text{bas}} - E_{\text{haut}}$ (eV)
1082.909114	$2^3S_1 \rightarrow 2^3P_0$	19.81961468 – 20.96421899
1083.025010	$2^3S_1 \rightarrow 2^3P_1$	19.81961468 – 20.96409651
1083.033977	$2^3S_1 \rightarrow 2^3P_2$	19.81961468 – 20.96408703

D'autres transitions peuvent être utilisées pour observer l'état  $2^3S_1$ , notamment la transition  $2^3S_1 \rightarrow 3^3P_2$  à 389 nm. Cependant l'utilisation d'un laser doublé en fréquence titane-saphir est nécessaire et celui-ci est plus coûteux que la diode laser accordable en longueur d'onde dans l'infrarouge utilisée ici [140]. Une partie des niveaux d'énergie de l'atome d'hélium est représentée sur la Figure 29.

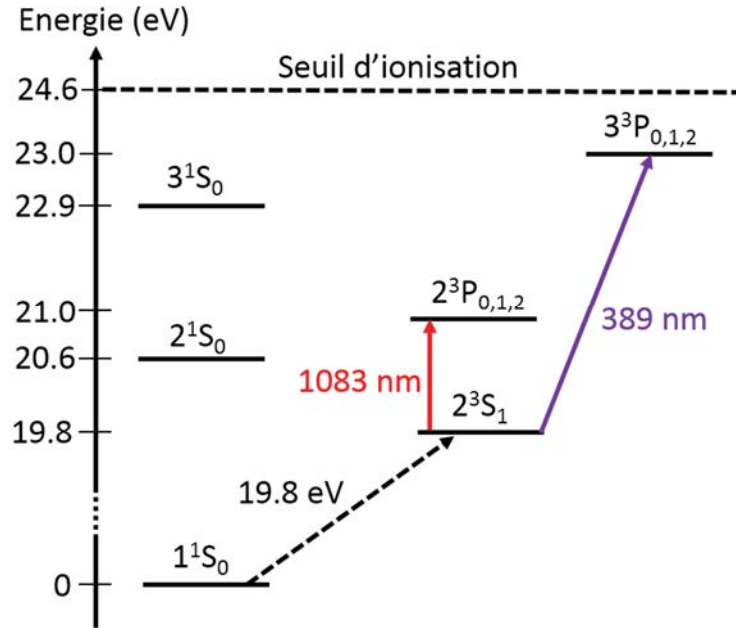


Figure 29 : Plusieurs niveaux d'énergies de l'atome d'hélium faisant apparaître l'état métastable  $2^3S_1$  mesurable par absorption laser [137], [141].

En théorie seule la transition  $2^3S_1 \rightarrow 2^3P_2$  est utilisée pour mesurer la densité d' $\text{He}^M$ , mais à pression atmosphérique l'élargissement de pression est suffisamment élevé pour provoquer un élargissement non négligeable de toutes les raies. En conséquence, à cette pression les deux raies  $2^3S_1 \rightarrow 2^3P_1$  et  $2^3S_1 \rightarrow 2^3P_2$  sont confondues comme l'indique la Figure 30 où les positions théoriques des trois raies ainsi que leur profil d'absorption à pression atmosphérique sont représentés.

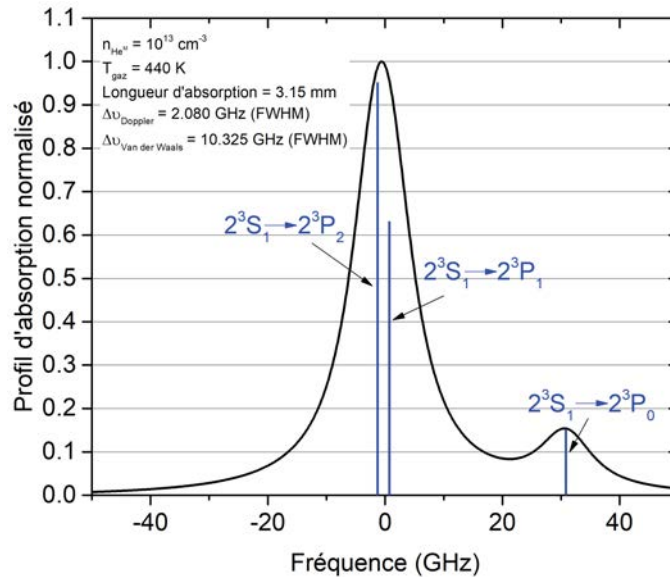


Figure 30 : Profil d'absorption normalisé (courbe noire) et positions théoriques (lignes verticales bleues) des transitions  $2^3S_2 \rightarrow 2^3P_{0,1,2}$  de l'hélium.

L'absorption se fait donc indifféremment sur les deux niveaux  $2^3S_1 \rightarrow 2^3P_1$  et  $2^3S_1 \rightarrow 2^3P_2$ . Pour les calculs théoriques de la densité d' $He^M$ , il suffira de prendre en compte les deux forces d'oscillateur de ces raies. Dans nos conditions expérimentales, les largeurs à mi-hauteur associées aux profils des raies ne sont pas affectées par les élargissements de puissance (puissance du laser au niveau du jet de plasma de 0.7 mW), Stark (densité électronique proche de  $10^{13} \text{ cm}^{-3}$ ) et instrumental [109].

### 3.2.3. Système de création et de contrôle du laser

Le schéma du montage est représenté sur la Figure 31.

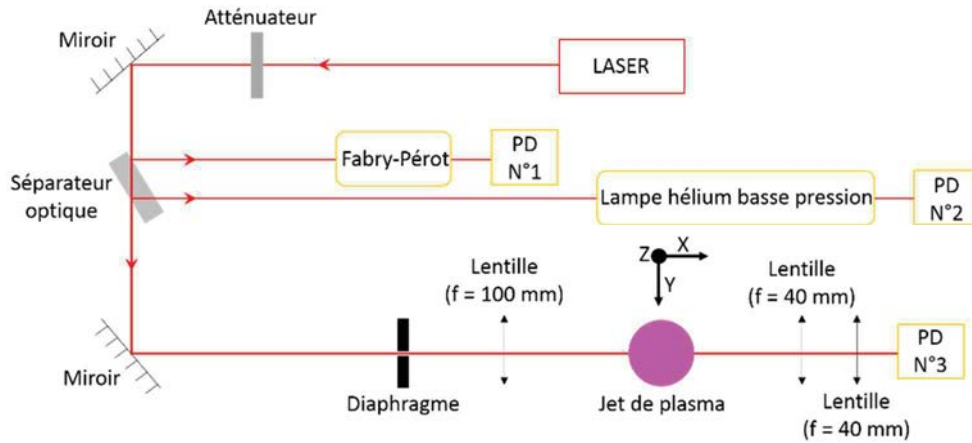


Figure 31 : Montage expérimental du laser, de son contrôle et de son passage dans le plasma pour mesurer la densité des  $He^M$ .

La diode laser accordable en longueur d'onde permet de sonder le jet de plasma afin d'obtenir les densités d' $He^M$ . La longueur d'onde du laser est contrôlée par l'alimentation du laser (Sys DC 110 Toptica). En effet, le semi-conducteur qui constitue la diode laser émet un rayonnement cohérent de longueur d'onde dépendante des valeurs du courant qui la traverse, ainsi que de sa température. Il est nécessaire de trouver le bon couple de valeur courant/température pour que la diode laser envoie des photons de longueur d'onde désirée pour effectuer les mesures.

La puissance du laser est de 70 mW, sa modulation en fréquence est de 20 GHz sans saut de mode, et sa stabilité en fréquence est d'environ 200 MHz sur quelques minutes [142], ce qui est supérieur à d'autres diodes laser du type Littrow (de l'ordre de la dizaine de MHz [143]). Cette forte valeur est largement compensée par l'élargissement de pression que subissent les raies à pression atmosphérique : une très grande précision sur la stabilité en fréquence de la diode laser n'est donc pas requise.

Il est essentiel de se placer à l'absorption maximale pour pouvoir mesurer la densité d' $He^M$  présent dans le jet, non seulement pour avoir le maximum d'absorbance, mais

aussi parce que nous souhaitons reproduire la manipulation à de nombreuses reprises dans les mêmes conditions sur des jours différents. Les conditions atmosphériques telles que la température ou la pression de la pièce peuvent jouer un rôle sur la précision de la longueur d'onde des photons émis par la diode laser. Il faut donc vérifier, et corriger si nécessaire, la température et le courant de la diode laser afin de se placer dans les conditions où l'absorption du laser est maximale. Pour cela, le faisceau laser initial passe à travers un séparateur optique qui le sépare en trois faisceaux. Des miroirs réfléchissants dans l'infrarouge (Thorlabs) permettent de les guider indépendamment jusqu'à une lampe d'hélium à basse pression, un Fabry-Pérot, et le jet de plasma. L'intensité du faisceau est réduite par un atténuateur de densité optique égale à 2 afin de ne pas saturer les détecteurs. La puissance du laser au niveau du plasma est dans ce cas égale à 0.7 mW.

Le premier faisceau entre dans une lampe basse pression d'hélium qui permet de régler le laser sur la fréquence centrale d'absorption de la transition  $2^3S_1 \rightarrow 2^3P_2$ . La température et le courant de la diode laser sont modifiés de manière à ce que le signal d'absorption soit maximal. Un photodétecteur développé au Laboratoire Interdisciplinaire de Physique (LIPhy) de Grenoble est placé derrière la lampe pour recueillir le signal absorbé et l'envoyer à l'oscilloscope (Tektronix TDS 1002, 60 MHz, 1 GS/s).

Le deuxième faisceau laser entre dans un autre détecteur développé au LIPhy relié au même oscilloscope, après avoir traversé un interféromètre confocal de Fabry-Pérot. Ce dernier permet de caler la longueur d'onde centrale des photons envoyés par le laser sur l'absorption maximale donnée par la lampe basse pression d'hélium, en plus de contrôler la structure en mode du laser. En effet, si le courant de la diode laser est modifié sans précaution, un second mode apparaîtra dans la cavité, ce qui indique que la puissance optique est distribuée non pas sur un, mais sur deux modes différents, induisant ainsi des erreurs sur la puissance émise par le rayonnement laser. Pour éviter cela, le balayage en fréquence de la diode laser doit se faire grossièrement avec le réglage de la température, puis plus finement avec le courant.

Le dernier faisceau est utilisé pour traverser le jet de plasma et ainsi obtenir l'intensité lumineuse après son passage dans le jet, afin de mesurer la densité d' $\text{He}^M$ . L'atténuateur est présent pour éviter la saturation du milieu par le laser, en plus de ne pas saturer le détecteur InGaAs (new Focus model 1811) situé derrière le jet de plasma. Un diaphragme est utilisé afin de retirer les faisceaux qui s'éloignent de l'axe optique, permettant une meilleure focalisation du laser. Une lentille de focale 100 mm (Thorlabs) placée avant le jet de plasma permet de focaliser le faisceau laser sous le jet de plasma de manière à obtenir un diamètre de laser de 100  $\mu\text{m}$  (10-90% de l'intensité maximale), comme le montre la Figure 32. Une lame de rasoir fixée à la sortie de la source a permis d'obtenir ces mesures de transmission.

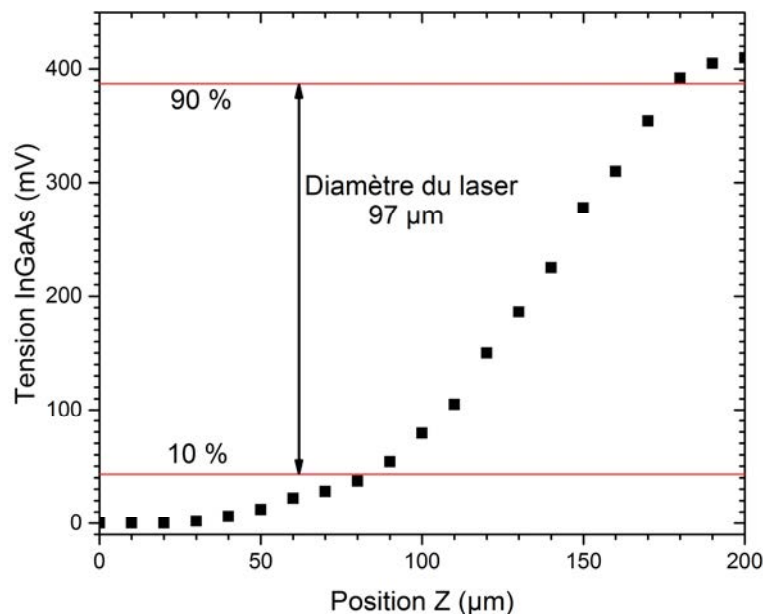


Figure 32 : Diamètre du laser au centre du jet de plasma, calculé entre 10 et 90% de son intensité maximale selon l'axe Z.

Nous supposons que la tache du laser au niveau du plasma est un cylindre : le diamètre du laser selon Z et selon Y est donc le même. Le plus petit pas en Y que l'on peut effectuer sans avoir de chevauchement entre deux points consécutifs est de 100  $\mu\text{m}$ , ce sera le pas selon Y qui sera utilisé par la suite. Derrière le jet de plasma, une seconde lentille de focale 40 mm est placée de manière à rendre parallèle les faisceaux lumineux à la sortie du jet. Ces faisceaux sont concentrés par une autre lentille de 40 mm de focale sur le détecteur InGaAs dont le temps de réponse est de 3 ns [144], relié à l'oscilloscope (Lecroy Waverunner 44Xi-A, 400 MHz, 5 Gs/s). Sa courbe de réponse est représentée sur la Figure 33. Rappelons que le laser émet à une longueur d'onde voisine de 1083 nm.

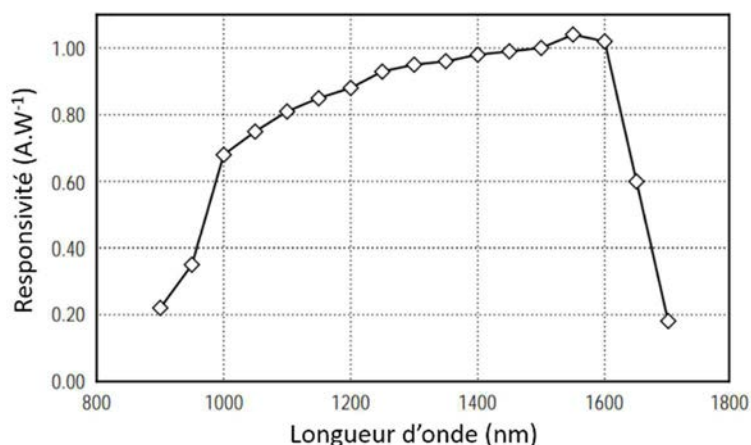


Figure 33 : Courbe de réponse du détecteur InGaAs [144].

### 3.2.4. Calcul théorique de la densité d'He<sup>M</sup>

La loi de Beer-Lambert permet d'exprimer l'intensité transmise d'une source lumineuse monochromatique après son passage dans un milieu absorbant entre le point d'entrée « 0 » et le point de sortie « l », telle que :

$$\frac{I(\nu)}{I_0(\nu)} = \exp\left(-\int_0^l \alpha(x, \nu) \cdot dx\right) \quad (14)$$

Avec  $I(\nu)$  l'intensité transmise après absorption à la fréquence  $\nu$ ,  $I_0(\nu)$  l'intensité avant absorption à la fréquence  $\nu$ ,  $l$  la longueur d'absorption du faisceau laser, et  $\alpha(x, \nu)$  le coefficient d'absorption. Dans le cas d'une seule raie (atomique ou rotationnelle) son expression est :

$$\alpha(x, \nu) = k_0 \cdot \phi(\nu) \cdot \left(N_i(x) - \frac{g_i}{g_s} \cdot N_s(x)\right) \quad (15)$$

Avec  $\phi(\nu)$  le profil normalisé gaussien de la raie tel que  $\int_{-\infty}^{+\infty} \phi(\nu) \cdot d\nu = 1$ ,  $N_i(x)$  la densité de population dans l'état inférieur « i » de la transition ( $2^3S_1$ ),  $g_i$  son poids statistique,  $N_s(x)$  la densité de population dans l'état supérieur « s » de la transition ( $3^3P_{1,2}$ ),  $g_s$  son poids statistique, et  $k_0$  la probabilité de transition telle que :

$$k_0 = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \cdot \frac{\pi e^2}{m_e c} \cdot f_{is} \quad (16)$$

Avec  $\epsilon_0$  la permittivité diélectrique du vide,  $e$  la charge électronique élémentaire,  $m_e$  la masse de l'électron,  $c$  la vitesse de la lumière et  $f_{is}$  la force d'oscillateur de la transition entre le niveau  $i$  et le niveau  $s$ . Dans notre cas les deux transitions  $2^3S_1 \rightarrow 2^3P_1$  et  $2^3S_1 \rightarrow 2^3P_2$  sont confondues à pression atmosphérique, c'est donc la somme de ces deux forces d'oscillateur qui sera comptabilisée.

Les conditions de validité de la loi de Beer-Lambert sont les suivantes :

- le milieu doit contenir uniquement un seul type d'espèce qui absorbe à cette longueur d'onde, c'est le cas ici avec seulement les atomes d'hélium métastable ;
- la lumière doit être monochromatique car le coefficient d'absorption  $\alpha$  est dépendant de la longueur d'onde. Pour vérifier cela il est nécessaire de comparer la largeur spectrale du laser avec la largeur de la raie d'absorption. Si la première est plus petite que la seconde, le laser sera considéré comme monochromatique vis-à-vis de la transition considérée. Dans notre situation, la largeur spectrale du laser est d'environ 100 MHz et la largeur de la raie d'absorption est d'environ 11 GHz, cette condition est donc respectée ;

- le milieu d'atténuation doit être homogène en température et en pression dans le volume d'interaction. Ces deux paramètres doivent donc être invariables le long de la ligne de visée du laser. Plusieurs études ont montré que les gradients de température et de pression dans les jets de plasma sont suffisamment faibles [145], [146] pour permettre de valider cette hypothèse. La variation de la température du gaz le long de la ligne de visée du laser peut cependant varier de 140 K environ, ce qui engendrera quelques incertitudes sur la quantification de la densité des atomes d'hélium métastable. On considérera que ce critère est respecté, tout en gardant à l'esprit qu'une partie de l'incertitude associée aux mesures peut provenir de la variation de la température le long de la ligne de visée du laser ;

- le laser doit être le moins intrusif possible vis-à-vis du plasma et de l'espèce étudiée. En effet, si l'intensité du laser est trop élevée, un phénomène de saturation optique (ou de pompage optique) peut apparaître, ce qui a pour effet de dépeupler le niveau inférieur : les atomes dans l'état supérieur sont perdus par désexcitation radiative dans un troisième niveau ou simplement par collisions. Dans ce cas de figure le niveau le plus bas ne sera pas suffisamment renouvelé, faussant ainsi la réelle densité de l'espèce absorbante. Ce n'est pas le cas ici.

Une approximation permet de simplifier le coefficient d'absorption  $\alpha(x, \nu)$  : elle consiste à négliger la densité des espèces sur le niveau supérieur  $s$  par rapport à la densité des espèces sur le niveau inférieur  $i$  uniquement si la différence en énergie correspondant à la transition électronique entre ces deux états est très grande devant la température du gaz [146]. Ici la température du gaz est inférieure à 500 K (environ 0.04 eV), alors que la différence en énergie entre les niveaux  $2^3S_1 \rightarrow 2^3P_{0,1,2}$  est d'environ 13000 K (environ 1.1 eV). Comme un facteur 26 apparaît entre ces deux températures, l'approximation est correcte donc le coefficient d'absorption devient :

$$\alpha(x, \nu) = k_0 \cdot \phi(\nu) \cdot N_i(x) \quad (17)$$

La loi de Beer-Lambert devient donc :

$$\frac{I(\nu)}{I_0(\nu)} = \exp\left(-\int_0^l k_0 \cdot \phi(\nu) \cdot N_i \cdot dx\right) = \exp(-k_0 \cdot \phi(\nu) \cdot N_i^{ligne} \cdot l) \quad (18)$$

Avec  $N_i^{ligne}$  la densité moyenne d'atomes dans l'état  $i$  le long de la ligne de visée du laser  $l$ .

Il existe un moyen permettant de simplifier cette expression. Soit  $S$  la surface de la raie d'absorption définie telle que [147] :

$$S = \int_0^{+\infty} \ln\left(\frac{I_0(\nu)}{I(\nu)}\right) \cdot d\nu \quad (19)$$

$$S = \int_0^{+\infty} \ln\left(\frac{1}{\exp(-k_0 \cdot \phi(\nu) \cdot N_i^{ligne} \cdot l)}\right) \cdot d\nu \quad (20)$$

$$S = \int_0^{+\infty} k_0 \cdot \phi(\nu) \cdot N_i^{ligne} \cdot l \cdot d\nu = k_0 \cdot N_i^{ligne} \cdot l \quad (21)$$

Nous pouvons alors en déduire la densité moyenne des espèces absorbantes dans l'état  $i$  le long de la ligne de visée  $l$  :

$$N_i^{ligne} = \frac{S}{k_0 \cdot l} = \frac{4 \cdot \epsilon_0 \cdot m_e \cdot c \cdot S}{e^2 \cdot f_{is} \cdot l} \quad (22)$$

La surface de la raie  $S$  étant une grandeur difficilement mesurable de prime abord, il est donc nécessaire de trouver une autre expression où elle n'apparaît pas directement. Soit une fonction  $f(\nu)$  représentant le profil de raie tel que son intégrale selon la fréquence est égale à  $S$  :

$$S = \int_0^{+\infty} f(\nu) \cdot d\nu \quad (23)$$

La fonction  $f(\nu)$  peut se réécrire de cette manière :

$$f(\nu) = \ln\left(\frac{I_0(\nu)}{I(\nu)}\right) \quad (24)$$

En normalisant  $f(\nu)$  par la surface de la raie on obtient une fonction normalisée du type :

$$\frac{f(\nu)}{S} = f_{norm}(\nu) = \frac{\ln\left(\frac{I_0(\nu)}{I(\nu)}\right)}{S} \quad (25)$$

Or, les profils normalisés des raies  $2^3S_1 \rightarrow 2^3P_{1,2}$  ont montré que le profil de Voigt est clairement dominé par la composante lorentzienne (élargissement Doppler négligeable devant l'élargissement de pression dans nos conditions), nous pouvons donc relier la valeur de la fonction en son sommet  $L(x_0)$  avec  $f_{norm}(\nu_0)$  :

$$L(x_0) = f_{norm}(\nu_0) = \frac{2}{\pi \cdot \Delta\nu_L} = \frac{\ln\left(\frac{I_0(\nu_0)}{I(\nu_0)}\right)}{S} \quad (26)$$

Avec  $\nu_0$  la fréquence au centre de la raie (qui représente la fréquence de fonctionnement du laser),  $x_0$  le centre de la lorentzienne, et  $\Delta\nu_L$  la largeur à mi-hauteur de la lorentzienne.  $S$  a donc une nouvelle écriture :



$$S = \frac{\pi \cdot \Delta \nu_L}{2} \cdot \ln \left( \frac{I_0(\nu_0)}{I(\nu_0)} \right) \quad (27)$$

La densité moyenne des espèces absorbantes dans l'état  $i$  le long de la ligne de visée peut donc se réécrire :

$$N_i^{ligne} = \frac{2 \cdot \varepsilon_0 \cdot m_e \cdot c \cdot \pi \cdot \Delta \nu_L}{e^2 \cdot f_{is} \cdot l} \cdot \ln \left( \frac{I_0(\nu_0)}{I(\nu_0)} \right) \quad (28)$$

Cette formule donne la densité d' $\text{He}^M$  dans l'état  $i$  moyennée sur le chemin optique  $l$ . Il est possible de s'affranchir du moyennage de cette densité sur le chemin optique en effectuant une inversion d'Abel : la densité absolue locale peut ainsi être déterminée. Pour utiliser l'inversion d'Abel il faut respecter deux conditions :

- la symétrie du milieu sondé doit être cylindrique (ou sphérique), ce qui est le cas du jet de plasma ;
- le milieu doit être optiquement mince, ce qui signifie que la déviation des rayons lumineux par la matière doit être suffisamment faible pour que la lumière se propage en ligne droite. Ici le jet de plasma a un diamètre de l'ordre du millimètre et ne provoque pas de déviation du faisceau visible, donc le jet de plasma est optiquement mince.

Considérons une fonction  $f(r)$  dépendant uniquement du rayon  $r$ , représentant une configuration cylindrique en 2D dans le repère  $(x,y)$ , ainsi qu'une fonction  $F(y)$  qui représente l'intégrale de  $f(r)$  le long de la direction  $x$  pour un  $y$  donné, telles que représentées sur la Figure 34. L'inversion d'Abel permet de séparer les contributions de chacune des couches de densité afin d'obtenir une densité pour chaque anneau.

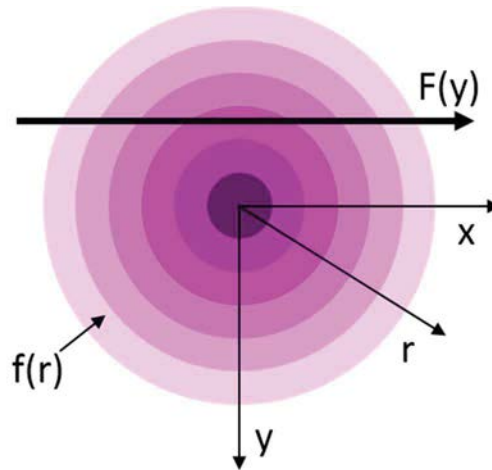


Figure 34 : Exemple d'un jet de plasma (vue de haut) possédant 6 couches de densité d' $\text{He}^M$  (nuances de rose).

Dans ce cas, la fonction  $F(y)$  s'écrit [148] :

$$F(y) = \int_{-\infty}^{+\infty} f(r).dx \quad (29)$$

En réalisant l'inversion d'Abel sur la fonction  $F(y)$ , on obtient [148] :

$$f(r) = -\frac{1}{\pi} \cdot \int_r^{+\infty} \frac{dF(y)}{dy} \cdot \frac{dy}{\sqrt{y^2 - r^2}} \quad (30)$$

Or, la fonction  $F(y)$  est égale au logarithme du rapport des intensités tel que [149] :

$$f(r) = -\frac{1}{\pi} \cdot \int_r^{+\infty} \frac{d\left(\ln\left(\frac{I_0}{I}\right)\right)}{dy} \cdot \frac{dy}{\sqrt{y^2 - r^2}} \quad (31)$$

Ici nous pouvons assimiler  $F(y)$  au nombre d' $\text{He}^M$  le long de l'axe de visée  $l$ , et  $f(r)$  à la densité absolue d' $\text{He}^M$ , notée  $N_{\text{He}^*}^{\text{Abel}}(r)$ , ce qui donne [145] :

$$N_i^{\text{ligne}}(y).l = \int_{-\infty}^{+\infty} N_{\text{He}^*}^{\text{Abel}}(r).dx \quad (32)$$

$$\frac{2 \cdot \varepsilon_0 \cdot m_e \cdot c \cdot \pi \cdot \Delta\nu_L}{e^2 \cdot f_{is}} \cdot \ln\left(\frac{I_0}{I}\right) = \int_{-\infty}^{+\infty} N_{\text{He}^*}^{\text{Abel}}(r).dx \quad (33)$$

On s'affranchit ici de la longueur d'absorption qui est dépendante de la tranche de plasma traversée. Pour aller plus loin, rappelons que l'équation (29) peut se réécrire sous la forme :

$$\ln\left(\frac{I_0}{I}\right) = \int_{-\infty}^{+\infty} f(r).dx \quad (34)$$

En combinant les équations (33) et (34) on obtient :

$$\frac{2 \cdot \varepsilon_0 \cdot m_e \cdot c \cdot \pi}{e^2 \cdot f_{is}} \cdot \Delta\nu_L \int_{-\infty}^{+\infty} f(r).dx = \int_{-\infty}^{+\infty} N_{\text{He}^*}^{\text{Abel}}(r).dx \quad (35)$$

Nous obtenons finalement la relation suivante :

$$N_{\text{He}^*}^{\text{Abel}}(r) = \frac{2 \cdot \varepsilon_0 \cdot m_e \cdot c \cdot \pi}{e^2 \cdot f_{is}} \cdot \Delta\nu_L \cdot f(r) \quad (36)$$

Avec  $\varepsilon_0 = 8.854 \cdot 10^{-12} \text{ m}^3 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{s}^4 \cdot \text{A}^2$ ,  $m_e = 9.109 \cdot 10^{-31} \text{ kg}$ ,  $c = 2.998 \cdot 10^8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ ,  $e = 1.609 \cdot 10^{-19} \text{ C}$  et  $f_{is} = f(2^3\text{P}_1) + f(2^3\text{P}_2) = 0.17974 + 0.29958 = 0.47932$  [137], d'où :

$$N_{\text{He}^*}^{\text{Abel}}(r) = 1,224 \cdot 10^{15} \cdot \Delta\nu_L \cdot f(r) \quad (37)$$

Où  $N_{\text{He}^*}^{\text{Abel}}(r)$  est en  $\text{m}^{-3}$ ,  $\Delta\nu_L$  est en GHz et  $f(r)$  est la valeur donnée après l'inversion d'Abel.

Comme l'équation (37) l'indique, la densité absolue radiale d' $\text{He}^M$  dépend de la largeur des raies associées aux transitions  $2^3S_1 \rightarrow 2^3P_{1,2}$ . Pour la mesurer, la fréquence du laser a été modifiée lorsque celui-ci est absorbé par le plasma, afin de scanner les trois transitions  $2^3S_1 \rightarrow 2^3P_{0,1,2}$ . Rappelons que la largeur à mi-hauteur des deux raies d'absorption dépend notamment de la température du gaz et de la densité d' $\text{He}^M$ , ce qui signifie qu'à chaque instant et chaque position, une mesure de la largeur des deux raies d'absorption devrait être réalisée pour mesurer la densité d' $\text{He}^M$  avec le plus de précision possible. Comme la mesure de cette largeur nécessite de scanner les raies d'absorption avec un pas en longueur d'onde relativement petit, sa détermination ne peut pas être effectuée pour toutes les positions de la décharge, notamment à cause du temps et de la quantité de gaz nécessaire à sa réalisation. Ici, seul un profil des trois raies a été réalisé à la sortie du tube de la source ( $Z = 0$  mm) et au centre du plasma ( $Y = 0$  mm). Les trois raies d'absorption dans ces conditions sont représentées sur la Figure 35 où le temps correspond à  $0.3 \mu\text{s}$  après le début du front montant de l'impulsion, lorsque la source asymétrique est utilisée. L'ajustement de la courbe expérimentale est réalisé à l'aide d'une courbe théorique issue d'un programme développé au LIPhy dépendant de la température du gaz, de la densité d' $\text{He}^M$  ainsi que de la longueur d'absorption du laser par le plasma [150].

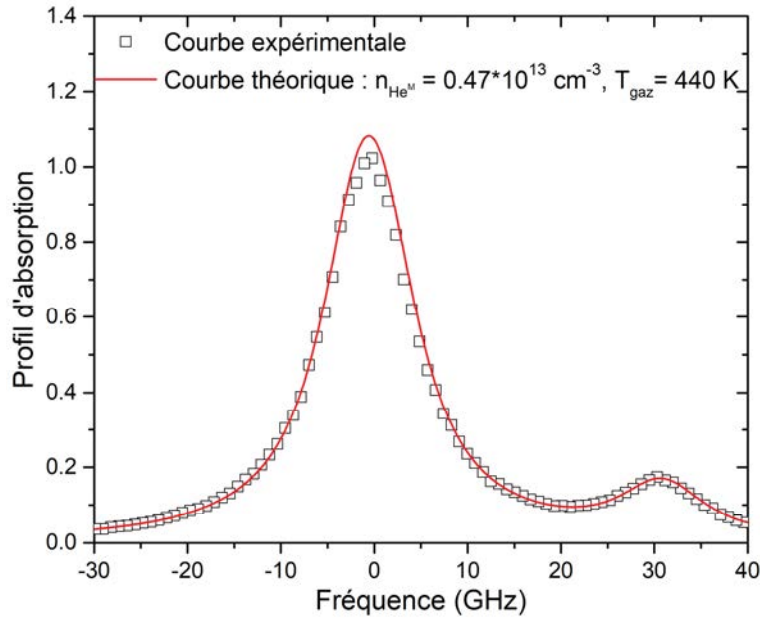


Figure 35 : Balayage fréquentiel du profil d'absorption des 3 transitions  $2^3S_2 \rightarrow 2^3P_{0,1,2}$  de l'hélium (carrés). La courbe théorique (ligne) est ajustée sur la courbe expérimentale en adaptant la densité d' $\text{He}^M$  et  $T_{\text{gaz}}$ . Ce profil est obtenu en  $Y = 0$  et  $Z = 0$  mm avec la source asymétrique.

Dans ce cas, la composante lorentzienne de la largeur à mi-hauteur des deux raies confondues est de 11 GHz, la température du gaz est de 440 K et la densité d'He<sup>M</sup> est de  $4.7 \cdot 10^{12} \text{ cm}^{-3}$ . Les élargissements des raies sont principalement dus à l'élargissement de pression, correspondant à la contribution lorentzienne, alors que l'élargissement Doppler est plus faible et correspond à une gaussienne. L'hypothèse précédente concernant l'importance de la contribution lorentzienne des raies est donc validée. L'élargissement Stark est ici négligeable face aux deux élargissements précédents. Dans le cas de la courbe théorique, l'incertitude sur la densité est relativement faible : environ  $0.01 \cdot 10^{13} \text{ cm}^{-3}$ . Elle est calculée en entourant au mieux le profil expérimental par deux courbes théoriques.

### 3.2.5. Modification de la méthode à forte absorption (inversion d'Abel contraire)

Les densités d'He<sup>M</sup> peuvent être biaisées si l'absorption est trop importante. En effet, la loi de Beer-Lambert fait intervenir le logarithme népérien du rapport  $I_0/I$  qui peut être assimilé à une fonction linéaire si l'absorption reste relativement faible (inférieure à 10%). Par contre, au-delà de ce seuil, donc lorsque l'absorption devient relativement forte, cette fonction n'est plus linéaire et l'inversion d'Abel ne peut plus être appliquée de manière classique. C'est justement dans le cas de fortes absorptions que nos mesures se situent, lors des fronts montants et descendants des impulsions. Une méthode alternative est alors mise en place afin d'obtenir les valeurs de densités correctes lors des fortes absorptions. Cette méthode, ayant déjà fait l'objet d'une étude approfondie [151], est rappelée brièvement ici. Un profil hypothétique de la densité d'He<sup>M</sup>(r) est simulé de manière à remonter au profil d'absorbance  $\ln(I_0/I)$  que l'on mesure expérimentalement. Pour cela, un programme développé au Laboratoire de Physique des Gaz et des Plasmas (LPGP) a été utilisé. Un profil de densité d'He<sup>M</sup>(r) est créé à l'aide de la combinaison d'une fonction gaussienne et d'une fonction cosinus. La fonction cosinus est utilisée pour simuler un creux de densité d'He<sup>M</sup> au centre du jet de plasma, s'il y en a effectivement un. La variation des paramètres de ces deux fonctions (hauteur et rayon du creux via la fonction cosinus, amplitude et largeur à mi-hauteur via la gaussienne) permet de façonner un profil de densité d'He<sup>M</sup>(r) hypothétique permettant de remonter à un profil d'absorbance hypothétique. Comme la transformée d'Abel d'une fonction  $f(r)$  est de la forme :

$$F(y) = 2 \int_y^\infty \frac{f(r) \cdot r \cdot dr}{\sqrt{r^2 - y^2}} \quad (38)$$

Nous pouvons ainsi remonter à l'absorbance telle que [151] :

$$\ln\left(\frac{I_0}{I}\right) = \frac{2}{\Delta v_L \cdot 1.224 \cdot 10^{15}} \int_y^\infty \frac{f(r) \cdot r \cdot dr}{\sqrt{r^2 - y^2}} \quad (39)$$

Les profils d'absorbance expérimentaux et simulés sont ajustés au mieux, en comptabilisant le facteur multiplicatif devant l'intégrale de l'équation (39). Finalement, l'écart entre les densités d' $\text{He}^M$  issues des deux méthodes (inversion d'Abel classique ou contraire) est représenté sur la Figure 36 (pour quelques conditions de notre étude).

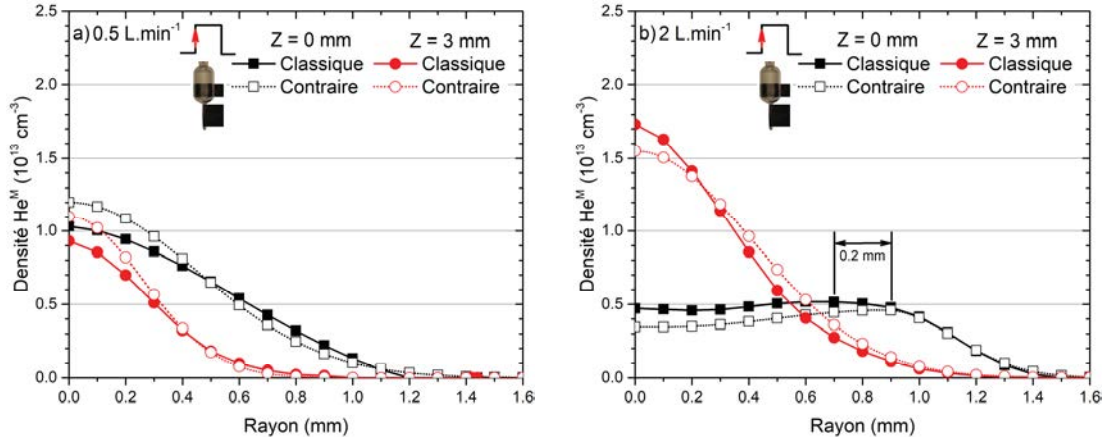


Figure 36 : Comparaison des méthodes d'inversion d'Abel « classique » et « contraire » permettant de mesurer les densités d' $\text{He}^M$  pour des débits de 0.5 et 2  $\text{L.min}^{-1}$  en des positions axiales de 0 (sortie de la source) et 3 mm (mi-distance entre sortie de la source et surface du liquide).

Les deux méthodes utilisées ont tendance à fournir les mêmes variations spatiales de la densité d' $\text{He}^M$  tout en conservant la présence de l'anneau s'il y en a un. Un décalage entre les rayons des anneaux des deux méthodes peut être observé, comme c'est le cas sur la Figure 36 b), où une différence de 200  $\mu\text{m}$  apparaît. Les valeurs des densités sont quant à elles très légèrement modifiées pour des densités inférieures à  $10^{13} \text{ cm}^{-3}$ . Au-delà, une différence relative de 30% peut apparaître au niveau des densités issues de la méthode classique. Afin d'harmoniser toutes les valeurs des densités autour d'une seule et même méthode, seule la méthode d'inversion d'Abel contraire sera utilisée dans toute la suite de ce travail.

### 3.2.6. Procédure pour mesurer les densités d' $\text{He}^M$

Pour obtenir les densités absolues d' $\text{He}^M$  dans les coordonnées cylindriques, la procédure utilisée est la suivante. Afin de rendre plus clair toutes les étapes du post-traitement à partir des signaux bruts, nous partons d'un signal brut obtenu avec le détecteur InGaAs, tel que représenté sur la Figure 37. Le débit de gaz est de 2  $\text{L.min}^{-1}$ , la source asymétrique est utilisée, la position axiale est fixée à  $Z = 0 \text{ mm}$  (sortie de la source) et la distance entre la surface du liquide et la sortie de la source est de 6 mm. La fréquence du laser est ajustée de manière à cibler les raies  $2^3\text{S}_2 \rightarrow 2^3\text{P}_{1,2}$ .

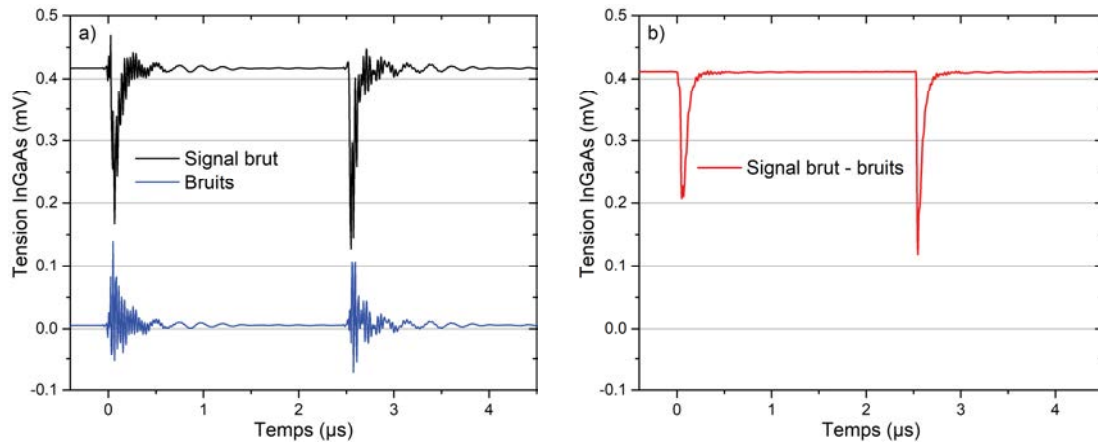


Figure 37 : Intensité transmise du laser après son passage dans le plasma : a) signal brut (signal d'absorption + bruits) et bruits (alimentation + émission du plasma + perturbations extérieures), b) signal traité (signal brut - bruits). Chaque signal est moyenné sur 4000 acquisitions.

Une fois que le signal transmis recueilli par le détecteur InGaAs est envoyé à l'oscilloscope, le bruit (contenant l'émission du plasma, le bruit électromagnétique de l'alimentation, la lumière ambiante, etc.) est retiré, tel que représenté sur la Figure 37. Chaque signal est moyenné sur 4000 acquisitions.

Le signal traité est transformé en absorbance en accord avec la loi de Beer-Lambert, puis lissé sur une fenêtre de trois points selon la méthode de Savitzky-Golay pour s'affranchir du bruit résiduel. L'absorbance qui en résulte est représentée sur la Figure 38.

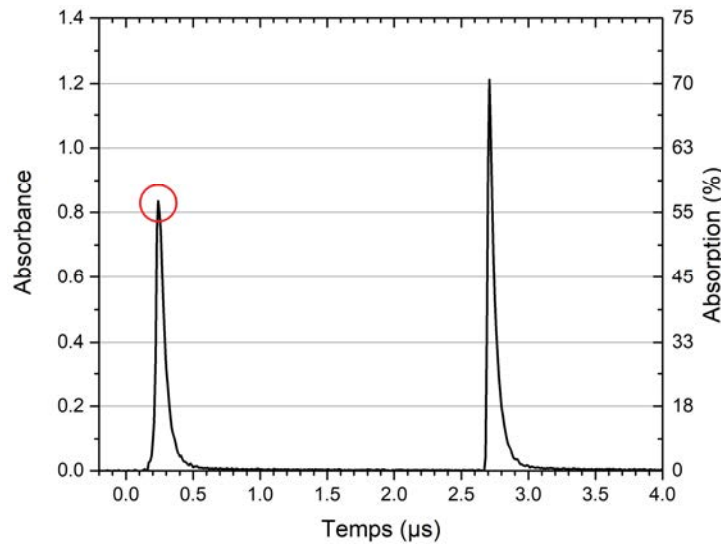
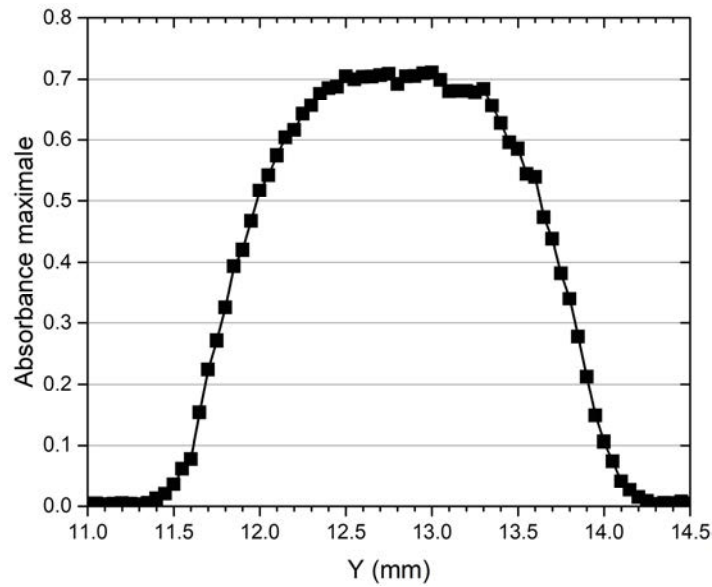


Figure 38 : Profil d'absorbance du plasma le long de la ligne de visée du laser. La zone entourée correspond au maximum de l'absorbance obtenue juste après le front montant de l'impulsion.

A ce stade du post traitement, nous ne conservons que le maximum d'absorbance correspondant au pic de production des atomes d'hélium métastable obtenu juste après les fronts de l'impulsion. Pour la suite de l'explication du post-traitement, nous ne considérons que le maximum d'absorption associé au front montant de l'impulsion, tel qu'entouré sur la Figure 38.

Ensuite, les absorbances le long d'un même axe horizontal (pour un même  $Z$ ) sont compilées de manière à obtenir toutes les absorbances du plasma de part et d'autre de son centre, telles que montrées sur la Figure 39.



*Figure 39 : Profil des maximums d'absorbance associés au front montant, le long de l'axe  $Y$  pour  $Z = 0$  mm.*

Ce profil d'absorbance est ensuite symétrisé de manière à pouvoir réaliser l'inversion d'Abel qui ne nécessite que la moitié droite du profil d'absorbance. La symétrisation de ce profil est menée en moyennant les absorbances deux à deux de part et d'autre de l'axe de symétrie du profil. La Figure 40 est ainsi obtenue.

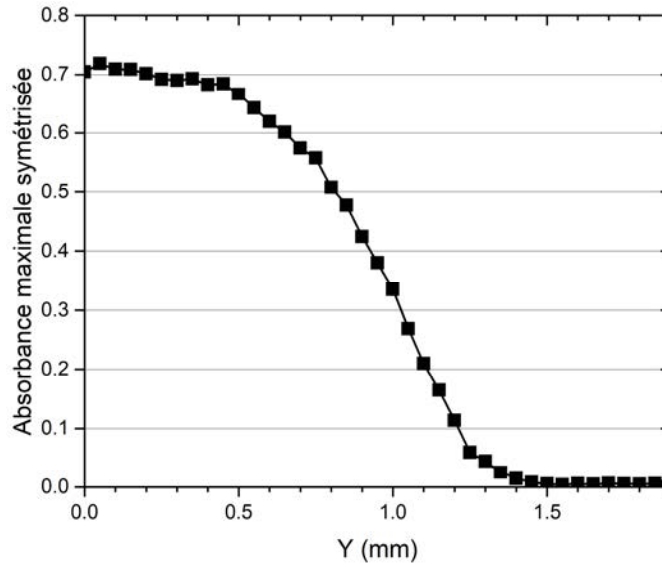


Figure 40 : Profil symétrisé des maximums d'absorbance et dont seule la moitié droite est conservée.

La méthode de l'inversion d'Abel contraire est ensuite utilisée. Cela signifie qu'un profil de densité d' $\text{He}^{\text{M}}$  radiale est simulé, de manière à retrouver la valeur de l'absorbance en accord avec l'équation (39). L'ajustement de la combinaison d'une gaussienne et d'une fonction cosinus avec le profil de densité hypothétique, permet d'obtenir le profil d'absorbance simulé de la Figure 41. Dans cet exemple, l'amplitude, l'espérance mathématique et l'écart-type de la gaussienne sont respectivement de  $0.49 \cdot 10^{13} \text{ cm}^{-3}$ , 0.86 mm et 0.24 mm. La fonction cosinus est telle que : la hauteur en  $R = 0 \text{ mm}$  du profil de densité est de  $0.357 \cdot 10^{13} \text{ cm}^{-3}$ , l'anneau démarre en  $R = 0.3 \text{ mm}$  et son rayon est de 0.86 mm.

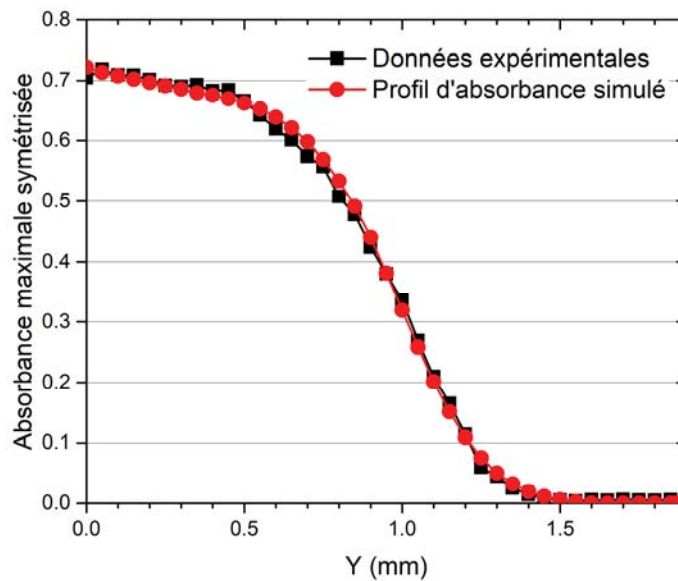


Figure 41 : Ajustement du profil d'absorbance mesuré expérimentalement avec un profil d'absorbance simulé à partir d'un profil de densité simulé après inversion d'Abel.



Une fois l'ajustement réalisé, le profil de densité simulé correspond au profil final de la densité radiale d' $\text{He}^M$  tel que représenté sur la Figure 42.

Dans le cas traité en exemple, la densité d' $\text{He}^M$  possède un creux en son centre, avant d'être maximale pour un rayon de 0.85 mm environ. Après cette valeur, la densité diminue rapidement avec l'augmentation du rayon jusqu'à zéro.

La procédure est ensuite effectuée sur chacun des deux fronts de l'impulsion, pour chaque position en Y (pas de 100  $\mu\text{m}$ ) et en Z (pas de 1 mm).

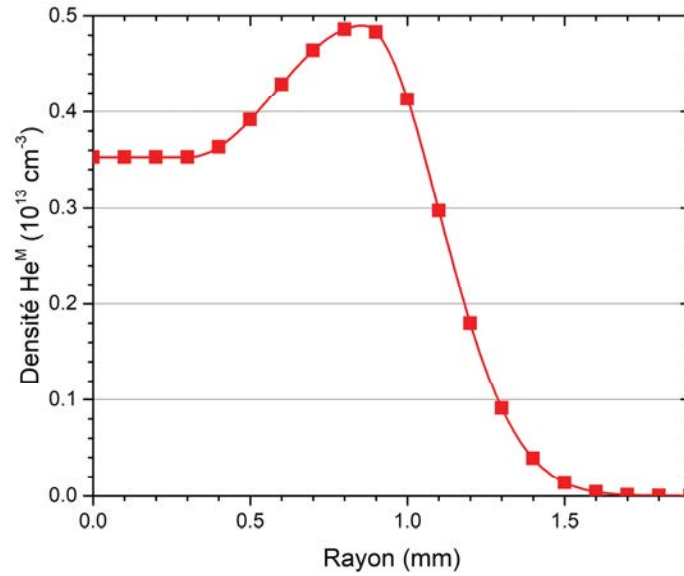


Figure 42 : Densité radiale d' $\text{He}^M$  simulée grâce à l'utilisation de la méthode d'inversion d'Abel contraire, obtenue après le front montant de l'impulsion.

### 3.2.7. Incertitudes sur les mesures de densité d' $\text{He}^M$

Les erreurs sur les valeurs des densités ont plusieurs origines : la répétabilité de la mesure, l'hypothèse de l'invariabilité de la température du gaz le long de la ligne de visée du laser et l'ajustement manuel des profils d'absorbance.

Une série de mesure a été effectuée trois fois sur des jours différents (donc dans des conditions atmosphériques sensiblement différentes) et a montré que l'erreur sur les densités peut avoisiner les 10% au maximum.

La température du gaz peut varier de 140 K le long de la ligne de visée du laser, ce qui modifie la valeur de la largeur à mi-hauteur des deux raies confondues  $2^3\text{S}_2 \rightarrow 2^3\text{P}_{1,2}$ . A titre d'exemple, une température de gaz de 440 K engendre un  $\Delta\nu_L$  de 10.3 GHz, tandis qu'une température de 300 K engendre un  $\Delta\nu_L$  de 13.5 GHz environ. L'erreur sur la densité est dans ce cas de l'ordre de 20%.

L'ajustement manuel des courbes par la méthode de l'inversion d'Abel contraire a là-aussi montré qu'un écart de 10% sur les densités pouvait survenir en modifiant légèrement les paramètres des fonctions d'ajustement, en accord avec l'étude qui utilise cette méthode [151].

La Figure 43 résume la somme de ces trois sources d'incertitudes affectant les mesures de densité. Afin de faciliter la lecture des courbes de densité, les barres d'erreur ne seront pas représentées par la suite.

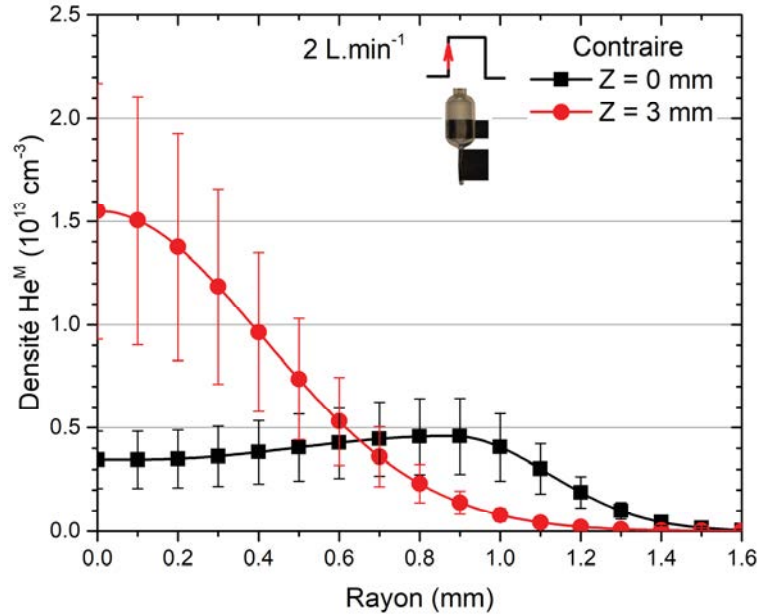


Figure 43 : Densités d'He<sup>M</sup> associées à leurs barres d'erreurs, pour un débit de 2 L.min<sup>-1</sup> en Z = 0 et 3 mm.

### 3.2.8. Procédure pour mesurer les temps de décroissance d'He<sup>M</sup>

Les temps de décroissance des atomes d'hélium métastables sont des informations qui peuvent être également déduites des profils de transmission mesurés. Ces temps sont les témoins de l'environnement gazeux autour des He<sup>M</sup> et peuvent fournir des données intéressantes sur la présence et le nombre des impuretés selon la position choisie dans le jet de plasma. En effet, comme énoncé précédemment, la destruction des He<sup>M</sup> s'expliquent principalement par leur quenching par les impuretés issues de l'air et de la bouteille de gaz. Ce type de collision binaire est caractéristique d'une loi mono-exponentielle. En conséquence, la décroissance observée après le maximum d'absorption peut être ajustée par une courbe exponentielle de type :

$$y = y_0 + Ae^{-t/\tau} \quad (40)$$

Avec  $y_0$  l'offset,  $A$  l'amplitude et  $\tau$  la constante de temps, caractéristiques de la décroissance exponentielle. La constante de temps associée à la courbe considérée représente le temps de décroissance des  $\text{He}^M$ .

Sans inversion d'Abel, les temps de décroissance seraient intégrés le long de la ligne de visée du laser. Il est donc nécessaire de procéder à l'inversion d'Abel de l'ensemble des profils d'absorption afin d'obtenir les temps de décroissance des  $\text{He}^M$  dans les coordonnées cylindriques. Pour cela, tous les temps identiques sont rassemblés, formant un profil d'absorbance en fonction de  $Y$  pour chaque position axiale  $Z$ . Ce profil subit ensuite l'inversion d'Abel par un programme conçu au LPGA et utilisant l'inversion d'Abel de type « Three-Point » [152]. Ici nous voulons inverser l'ensemble du profil d'absorbance, pas seulement les maximums d'absorptions, d'où l'utilisation de ce nouveau programme. Les profils d'absorbance sont ensuite reconstruits pour obtenir les profils d'absorbance inversés pour chaque position radiale dans le jet de plasma en fonction du temps. Nous obtenons ainsi une courbe d'absorbance inversée comme représentée sur la Figure 44. Le débit de gaz est de  $2 \text{ L.min}^{-1}$ , la source asymétrique est utilisée, la position axiale est fixée à  $Z = 0$  et la distance entre la surface du liquide et la sortie de la source est de 6 mm. Ce profil est obtenu pour un rayon du jet de plasma situé à  $R = 0.85 \text{ mm}$ .

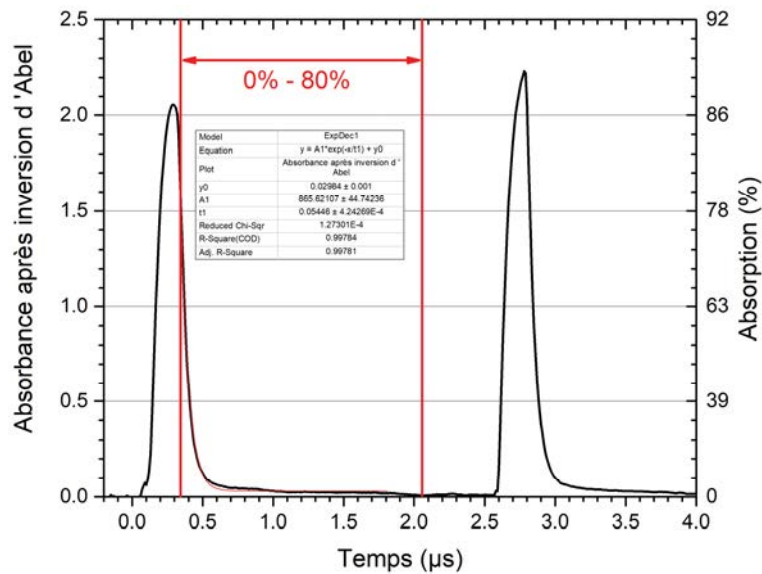


Figure 44 : Profil d'absorbance en  $R = 0.85 \text{ mm}$  après inversion d'Abel. Les lignes verticales rouges correspondent à la zone de l'ajustement de la décroissance exponentielle après le front montant de l'impulsion.

Une précaution est toutefois prise lors de l'ajustement des décroissances par des exponentielles en ne considérant qu'une partie de la décroissance. En effet, nous avons observé lors des calculs des densités que la méthode d'inversion classique peut fournir des valeurs de densités erronées. Pour contrer cet effet qui intervient principalement à haute

absorption, seule la zone correspondant à 0% - 80% de la décroissance est considérée, telle que représentée sur la Figure 44 (ici après le front montant).

Les durées de vie sont ensuite déterminées selon le rayon de la décharge étudié. Dans le cas du profil représenté sur la Figure 44, la durée de vie des  $\text{He}^{\text{M}}$  mesurée après le front montant est de 54 ns.

Là aussi les incertitudes liées à la mesure et à l'ajustement de la courbe exponentielle ne seront pas représentées sur les graphiques pour plus de lisibilité. Elles correspondent à environ 10% de la valeur finale.

### 3.3. Spectroscopie d'émission optique

Nous avons réalisé de la spectroscopie d'émission optique (OES) afin d'observer les émissions des espèces excitées provenant du plasma. Un spectromètre (HR2000+, OceanOptics) contenant un réseau de 300 traits. $\text{mm}^{-1}$  est utilisé. Le réseau possède plusieurs régions avec des angles de blaze différents fournissant une bonne efficacité sur toute la gamme de longueur d'onde (200 – 1100 nm) [153]. Un capteur CCD à l'intérieur du spectromètre permet de collecter les faisceaux séparés par le réseau. L'acheminement de la lumière du plasma jusqu'au spectromètre est effectué par une fibre optique de 200  $\mu\text{m}$  de diamètre.

L'alignement de la fibre avec le jet de plasma est réalisé avec un laser d'alignement dont le procédé est identique à celui utilisé lors de l'utilisation de l'absorption laser. Le laser, relié à la fibre optique, passe à travers un système de lentille (Thorlabs,  $f = 300$  et 30 mm) permettant de focaliser le laser sur le jet de plasma. Une lentille à l'arrière du plasma (Thorlabs,  $f = 30$  mm) focalise le laser sur une photodiode à avalanche (Thorlabs, APD110A2). Une lame de rasoir permet de placer avec précision le point de focalisation du laser au niveau du jet de plasma, dont le diamètre est fixé à 100  $\mu\text{m}$ . Le schéma du dispositif expérimental avec la partie concernant l'alignement de la fibre sur la zone ciblée du plasma est représenté sur la Figure 45 a). Après avoir procédé à l'alignement de la fibre optique, le laser est remplacé par le spectromètre, tandis que la partie du montage à l'arrière du plasma est retiré, tels que représentés sur la Figure 45 b).

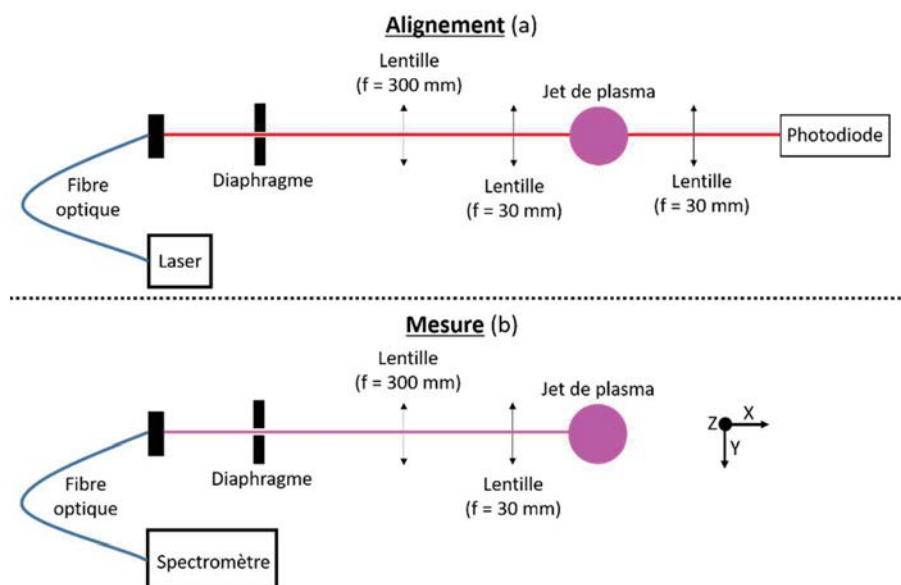


Figure 45 : Schémas du dispositif expérimental pour l'acquisition de spectres optiques résolus spatialement (vues de haut). Le schéma a) représente la façon dont la fibre optique a été alignée afin de n'observer qu'une partie du plasma. Le schéma b) représente le montage utilisé pour faire une mesure classique d'un spectre.

Les mesures concernant la spectroscopie d'émission sont effectuées comme pour l'absorption laser, avec un pas de 100  $\mu\text{m}$  le long de l'axe radial (Y) et un pas de 1 mm le long de la direction axiale (Z).

Comme le spectromètre n'est pas équipé d'un capteur intensifié, le temps d'acquisition d'un spectre ne peut être plus bas que 10 ms, ce qui n'est pas suffisant pour pouvoir suivre temporellement la propagation du jet de plasma dans l'air. Les spectres optiques présentés dans ce travail sont donc des spectres intégrés sur des temps allant de 100 à 600 ms, soient durant 2000 à 12000 décharges successives respectivement, comme la fréquence des impulsions est de 20 kHz. Toutes les intensités des spectres ont été ramenées à un temps d'acquisition de 100 ms (par exemple en divisant par 6 les intensités des acquisitions effectuées sur 600 ms), après s'être assuré que les valeurs des intensités étaient linéaires entre 100 et 600 ms. De plus, comme le spectromètre n'est pas calibré en intensité, les valeurs des intensités des émissions ne peuvent pas être comparées entre elles. Seules les intensités relatives pourront être commentées. Chaque spectre est moyenné sur 10 acquisitions pour améliorer le rapport signal/bruit.

Un exemple de spectre optique du jet de plasma en son centre et à la sortie de la source (Z et Y = 0 mm) est représenté sur la Figure 46, dans le cas où la source asymétrique est utilisée. Les principales raies d'émission sont indiquées directement sur le graphique.

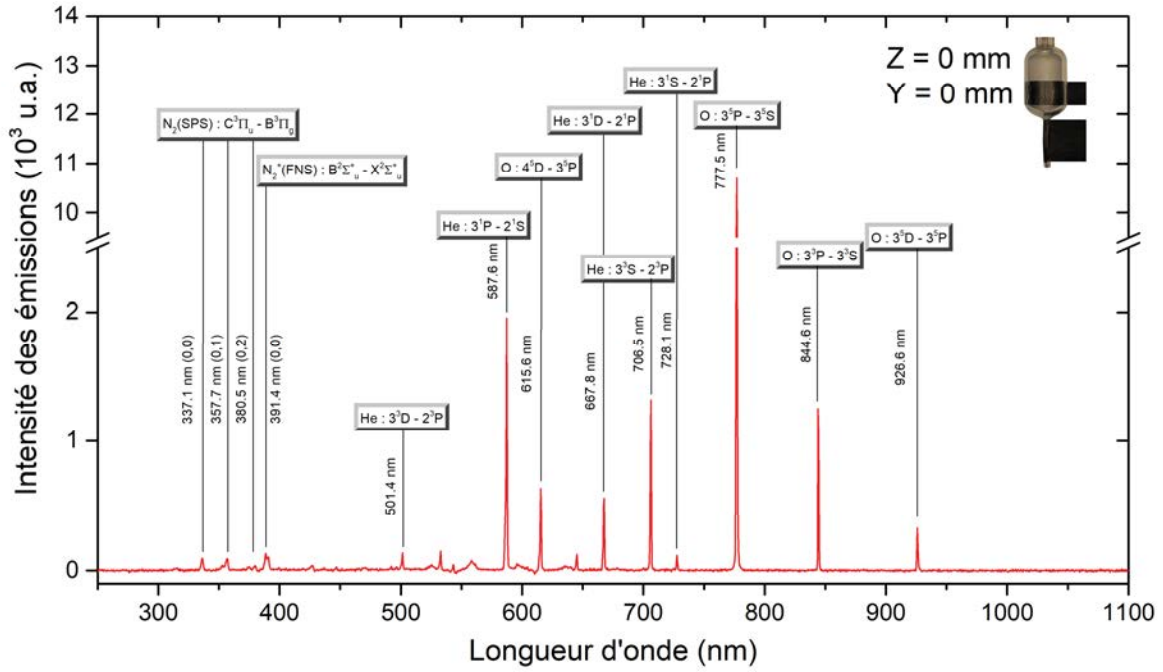


Figure 46 : Spectre optique dans l'intervalle 250-1100 nm : source asymétrique,  $Z = 0$  mm (sortie de la source) et  $Y = 0$  mm (centre de la plume de plasma).

Nous pouvons observer une variété d'espèces excitées de l'hélium et de l'oxygène essentiellement. Les SPS et FNS du diazote apparaissent également, mais avec des intensités plus faibles.

### 3.4. Imagerie iCCD

La caméra iCCD (intensified Charge Coupled Device) utilisée dans cette thèse (Princeton Instruments PI-MAX) a une résolution de 1024\*1024 pixels. L'intensificateur RB (Red-Blue) permet d'obtenir une gamme de longueur d'onde mesurable par la caméra entre 200 et 900 nm. La matrice CCD est refroidit par effet Peltier jusqu'à -20 °C afin de réduire le courant d'obscurité (dark current), ce qui a pour effet d'améliorer le rapport signal/bruit. Un objectif visible-UV (Nikkor 80-400 mm, Nikon) est monté sur la caméra.

Le schéma du dispositif expérimental, accompagné de la caméra iCCD, est représenté sur la Figure 47.

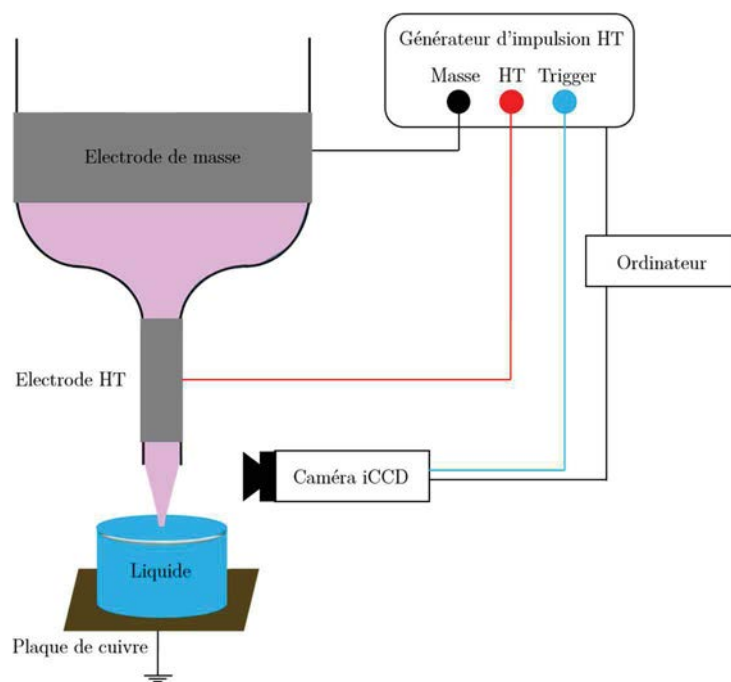
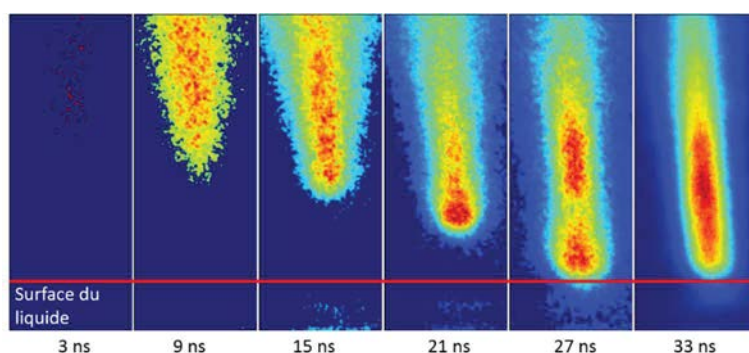


Figure 47 : Schéma du dispositif expérimental avec la caméra iCCD.

L'acquisition d'une image par la caméra iCCD se fait en plusieurs étapes. Les photons incidents traversent la fenêtre d'entrée de la caméra et entrent en contact avec la photocathode libérant des photoélectrons. Si l'intensificateur est ouvert, ces électrons franchissent une galette de micro canaux (microchannel plate ou MCP) qui est composée de  $10^6$  multiplicateurs d'électrons miniatures individuels [154]. Le gain de cet intensificateur est fixé grâce à la différence de potentiel appliquée entre l'entrée et la sortie du MCP, dont on peut choisir la valeur avec le logiciel Winview. L'accélération des électrons engendre des collisions efficaces ou non (dépendant de la différence de tension énoncée ci-avant) avec les parois des canaux pour produire d'autres électrons. A la sortie du MCP, les électrons sont une nouvelle fois accélérés vers le revêtement en phosphore d'un écran fluorescent causant la libération de photons. Ceux-ci sont alors transférés à la surface du CCD à l'aide d'un système de lentilles. Ils sont convertis en photoélectron de la même manière que précédemment, pour se retrouver piéger dans des puits de potentiel (pixels) qui leur font face. Les charges continuent de s'accumuler dans les puits tant que l'intensificateur est ouvert (et tant qu'il n'y a pas saturation des puits). Un phénomène de saturation apparaîtra si le temps d'ouverture du CCD est trop long (au-delà de 65000 coups dans notre cas). Les charges accumulées sont ensuite transférées ligne par ligne vers un registre horizontal. Une tension analogique est attribuée en fonction du nombre d'électrons de chaque pixel. Un convertisseur permet alors d'obtenir un signal digital que la caméra peut transmettre à l'ordinateur. Le logiciel Winview se charge finalement de prélever ces informations, affichant l'image sur l'écran de l'ordinateur.



La technique d'intensification de l'image permet de réduire de manière importante le temps d'intégration de la caméra par rapport à une caméra CCD classique, ce qui est adéquat s'il on veut suivre des phénomènes très rapides dans le temps. Le « gate mode » est une fonction particulière de la caméra permettant de collecter des photons sur des temps de l'ordre de la nanoseconde. En l'occurrence, notre caméra iCCD est capable de s'ouvrir pendant des portes temporelles allant au minimum jusqu'à 3 ns FWHM (Full Width at Half Maximum) [154]. Nous sommes donc capables de suivre l'évolution temporelle et spatiale du front d'ionisation du streamer afin de déterminer la distribution spatio-temporelle des espèces se désexcitant de manière radiative. Plusieurs images sont représentées en exemple sur la Figure 48, à la suite de l'utilisation du gate mode de la caméra lors du front montant de l'impulsion.



*Figure 48 : Images intégrées sur 3 ns de la propagation du front d'ionisation lors du front montant de l'impulsion, dans un mélange He + 0.2% O<sub>2</sub> à 0.5 L.min<sup>-1</sup>, pour une distance source/liquide de 6 mm.*

La caméra, munie d'un Programmable Timing Generator (PTG) faisant le lien avec l'ordinateur, est synchronisée avec le signal de trigger de l'alimentation haute tension qui précède le front montant de l'impulsion de quelques dizaines de nanosecondes. Dès que ce front est détecté par la caméra, son intensificateur s'active et laisse passer les photons (pendant le temps d'exposition que l'utilisateur aura préalablement rentré dans le logiciel). Dans le cas de l'utilisation du gate mode, la fenêtre temporelle est petite (3 ns) d'où un signal lumineux recueilli par la caméra relativement faible. Pour augmenter la quantité de lumière du phénomène lumineux que l'on cherche à observer, une accumulation sur le CCD est possible. En effet, à condition que le phénomène observé soit répétitif dans le temps (ce qui est le cas de la propagation du jet de plasma dans l'air d'une impulsion à l'autre), le CCD peut continuer l'accumulation de la lumière selon la consigne rentrée par l'utilisateur dans le logiciel. A titre d'exemple, l'accumulation sur le CCD des images représentées sur la Figure 48 est de 1000. Le gain du MCP peut être ajusté de manière à réduire l'accumulation sur le CCD. Dans toute cette étude, le gain est fixé à 200 (la quantité de signal lumineux reçu par le CCD est linéaire avec la variation



du gain entre 50 et 200 environ). Ainsi, la qualité du signal lumineux dépend principalement de l'accumulation sur le CCD et du gain, qui sont optimisés de manière à obtenir un rapport signal/bruit optimal.

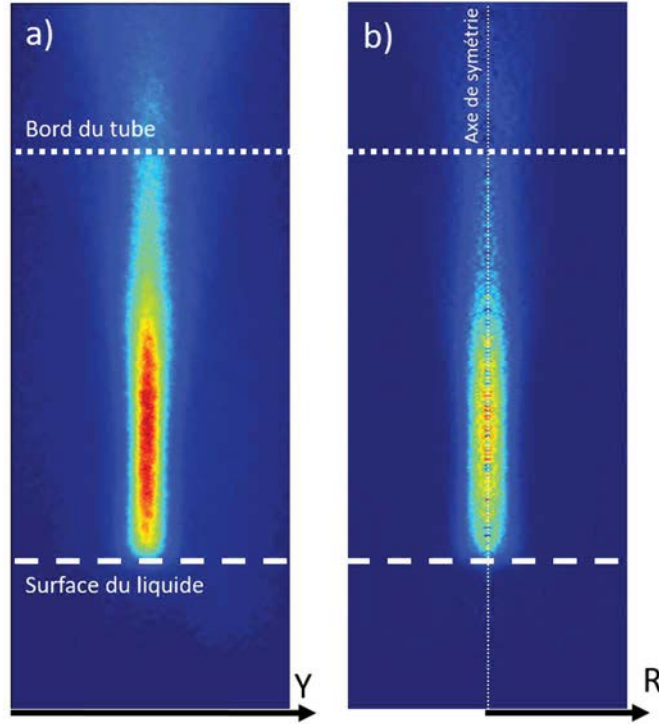
Comme la caméra capte les photons sur une très large plage de longueur d'onde, l'utilisation de filtres interférentiels permet de sélectionner les émissions qui nous intéressent. L'évolution spatio-temporelle de certaines espèces émettrices est alors déterminée lors de la propagation du jet de plasma dans l'air. Les filtres que nous avons utilisés ainsi que leurs caractéristiques sont listés ci-après (leur bande passante est de 10 nm) :

- le filtre 380 nm isole les émissions de la transition  $N_2(C^3\Pi_u - B^3\Pi_g)(0,2)$  à 380.5 nm. Cette transition est plus connue sous le nom de second système positif (SPS) de l'azote. L'énergie associée au niveau  $N_2(C^3\Pi_u)(0)$  est de 11 eV environ ;
- le filtre 390 nm isole les émissions de la transition  $N_2^+(B^2\Sigma_u^+ - X^2\Sigma_g^+)(0,0)$  à 391.4 nm. Cette transition est plus connue sous le nom de premier système négatif (FNS) de l'azote. L'énergie associée au niveau  $N_2^+(B^2\Sigma_u^+)(0)$  est de 18.8 eV environ. Il faut cependant noter que des émissions lumineuses des systèmes  $N_2(C^3\Pi_u - B^3\Pi_g)(3,6)$  à 389.4 nm et  $N_2(C^3\Pi_u - B^3\Pi_g)(2,5)$  à 394.3 nm peuvent être pris en compte avec ce filtre ;
- le filtre 700 nm isole les émissions de la transition  $He(3^3S - 2^3P)$  à 706.5 nm. L'énergie associée au niveau  $He(3^3S)$  est de 22.7 eV environ ;
- le filtre 780 nm isole les émissions du triplet associée à la transition  $O(3^5P - 3^5S)$  à 777.5 nm. L'énergie associée au niveau  $O(3^5P)$  est de 10.7 eV environ.

Ces filtres ont tous des transmissions différentes, dû au matériau utilisé lors de leur fabrication. La caméra elle-même répond d'une manière différente selon la longueur d'onde des photons qu'elle reçoit. De plus, le phénomène de désactivation des espèces excitées par d'autres espèces est important à la pression atmosphérique et dépend de l'espèce excitée. Nous ne pouvons donc pas comparer les intensités provenant de différents filtres sans sources lumineuses calibrées en intensité. C'est pourquoi seules des comparaisons qualitatives pourront être effectuées, notamment sur la répartition des émissions dans le plasma.

A l'instar des profils de densité d' $He^M$  et de leur temps de décroissance, l'inversion d'Abel a été réalisée sur toutes les images issues de la caméra iCCD, obtenues avec des filtres interférentiels ou non. Cette inversion permet d'observer les émissions du jet de plasma mesurées avec la caméra selon le rayon de la décharge. L'idée est ici de repérer les émissions réelles de chaque portion du plasma, sans intégrer les émissions sur la ligne de visée de la caméra. Les émissions du centre du plasma peuvent ainsi être révélées. La

méthode d'inversion de « Hansen-Law » est utilisée [152]. Un exemple d'image 2D obtenue sans filtre, associée à son inversion, est représenté sur la Figure 49. Plus la couleur tend vers le rouge, plus l'intensité est élevée. À l'inverse, le bleu représente l'intensité minimale (le fond de l'image).



*Figure 49 : Images de la décharge générée lors du front montant avec la source asymétrique, réalisée avec la caméra iCCD sans aucun filtre, juste après le contact plasma/liquide a) avant inversion d'Abel et b) après inversion d'Abel.*

Le programme permettant de réaliser l'inversion d'Abel prend en compte uniquement l'une des deux moitiés de l'image (en l'occurrence la zone à droite du centre du jet). En conséquence, et dans l'intention de mieux se représenter la forme du jet de plasma, toutes les images après inversion d'Abel ont été symétrisées. L'axe vertical central correspond au rayon  $R = 0$  mm de la décharge et la partie à gauche de ce rayon est l'exacte copie de la partie à droite de  $R = 0$  mm. La ligne verticale centrale peut contenir des intensités légèrement biaisées principalement à cause du choix de l'axe de symétrie de l'inversion (déterminé comme passant par le centre de masse des intensités associées à l'image dans sa totalité). Le jet de plasma n'étant pas toujours symétrique par rapport à cet axe, en particulier lorsqu'il se déplace aléatoirement sur la surface du liquide, il se peut que des biais apparaissent (représentés par une ouverture du jet de plasma à son extrémité).

### 3.5. Conclusion

La caractérisation de la phase plasma a été menée à l'aide de plusieurs diagnostics : la spectroscopie d'émission optique, l'imagerie intensifiée et filtrée en longueur d'onde pour déterminer les émissions des espèces excitées émises par le plasma, ainsi que l'absorption laser pour déterminer la densité absolue des atomes d'hélium métastable dans le jet de plasma. Leur temps de décroissance a également été mesuré. L'inversion d'Abel a été utilisée afin d'obtenir des profils des espèces excitées et des  $\text{He}^M$  en fonction du rayon de la décharge. Dans ce dernier cas, un soin particulier a été apporté quant à la vérification de la validité de l'inversion d'Abel. En l'occurrence, des biais peuvent apparaître sur les valeurs des densités si l'absorption est trop forte (ce qui est souvent le cas au niveau des absorptions associées aux deux fronts de l'impulsion). Ce problème a été résolu grâce à la méthode d'inversion d'Abel contraire.

## 4. Matériel et méthodes chimiques

### 4.1. Matériel

#### 4.1.1. Substances chimiques

Les substances chimiques utilisées pour caractériser la phase liquide sont listées dans le Tableau 4.

*Tableau 4 : Liste des substances chimiques.*

Nom	Compagnie et numéro de catalogue
Ascorbic acid, 99%	Acros Organics, #105025000
Hydrogen peroxide solution 35%	Fisher Scientific, #11995366
Methylene blue, 1% w/v	Alfa Aesar, #42771.AE
Phosphate Buffered Saline 10X (PBS)	Fisher BioReagents, #BP39-500
Potassium iodide, 99%	Acros Organics, #447115000
Sodium azide	Sigma-Aldrich, #S2002
Starch	Acros Organics, #10572581
Titanium(IV) oxysulfate solution	Supelco, #34244-1L

#### 4.1.2. Kit commercial

Le kit utilisé lors de cette même caractérisation est mentionné dans le Tableau 5.

Tableau 5 : Liste des kits utilisés.

Nom	Compagnie et numéro de catalogue
Nitrate/Nitrite Colorimetric Assay Kit	Cayman Chemical, #78001

#### 4.1.3. Solutions

Le contenu de chaque solution a été listé dans le Tableau 6.

Tableau 6 : Liste des solutions et des tampons.

Nom	Quantité finale	Recette
KI + amidon	500 mL	Ajouter 2.5 g d'amidon dans 500 mL d'eau ultra-pure portée à ébullition. Après dissolution complète, laisser refroidir la solution. Ajouter ensuite 2.07 g de KI.
KI + amidon + acide ascorbique	500 mL	Ajouter 2.5 g d'amidon dans 500 mL d'eau ultra-pure portée à ébullition. Après dissolution complète, laisser refroidir la solution. Ajouter ensuite 2.07 g de KI. Après dissolution complète, ajouter 2.65 g d'acide ascorbique.
Solution de bleu de méthylène (12.5 $\mu$ M)	200 mL	Mélanger 80 $\mu$ L de bleu de méthylène avec 200 mL d'eau ultra-pure.

## 4.2. Méthodes

### 4.2.1. Mesures et incertitudes

Chacune des mesures a été réalisée trois fois. La moyenne de ces trois mesures est ensuite réalisée, et l'incertitude correspond à leur écart-type.

### 4.2.2. pH et température du liquide

Le pH et la température du liquide ont été relevés moins de 30 secondes après la fin du traitement par plasma. Le pH-mètre (HI-2221, Hanna Instruments) est muni d'une sonde de température que l'on doit plonger dans le liquide, en même temps que la sonde de pH. Mesurer le pH et la température pendant le traitement ne donnerait pas de mesures fiables étant donné le faible volume du liquide : la méthode est beaucoup trop intrusive pour ne pas perturber le plasma et les réactions chimiques qui ont lieu en phase liquide. Ces deux grandeurs ont donc été mesurées après la fin des traitements.

Soit une équation d'oxydo-réduction du type :



Où  $a$ ,  $b$  et  $n$  sont les coefficients respectivement associés à l'espèce oxydante Ox, à l'espèce réductrice Red et aux électrons  $e^-$ . Dans ce cas, la relation liant le pH à la température est régie par l'équation de Nernst :

$$E_{\text{Ox/Red}} = E_{\text{Ox/Red}}^0 - 2.3 \cdot \frac{RT}{F} \cdot \text{pH} \quad (42)$$

Où  $E_{\text{Ox/Red}}$  est le potentiel mesuré par l'électrode du couple Ox/Red,  $E_{\text{Ox/Red}}^0$  est le potentiel standard du couple Ox/Red,  $R$  est la constante des gaz parfaits et  $F$  est la constante de Faraday.

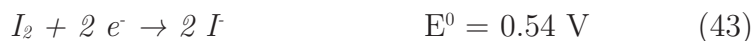
Comme la température du liquide s'éloigne de la température de la salle (autour de 20 °C), il peut y avoir un biais sur le pH si la température n'est pas relevée en même temps.

#### 4.2.3. Révélation des RONS en phase liquide par une solution d'amidon et d'iodure de potassium

Il existe une méthode relativement simple capable de révéler la présence de certains RONS (Reactive Oxygen and Nitrogen Species) en phase liquide. Initialement cette technique fut utilisée pour vérifier la présence de peroxyde d'hydrogène dans des plantes [155]. En adaptant la méthode dans nos conditions opératoires, nous pouvons également révéler la formation des  $\text{H}_2\text{O}_2$  ainsi que de plusieurs autres RONS que le jet de plasma est capable d'apporter à la cible liquide.

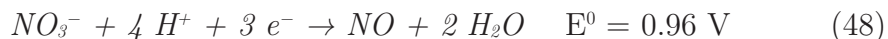
La solution en jeu est un mélange d'amidon et d'iodure de potassium. Les espèces qui sont impliquées dans une demi-réaction d'oxydo-réduction dont le potentiel associé est plus grand que celui impliquant la transformation des ions iodures en diiode, sont capables de créer un complexe coloré. Ainsi, un complexe violet caractéristique de la présence du complexe amidon/ $\text{I}_3^-$  sera créé dès qu'une espèce chimique sera capable de réduire le diiode en ion iodure.

La demi-équation de réduction du diiode est la suivante :



Le potentiel d'oxydoréduction standard  $E^0$  de cette demi-équation est égal à 0.54 V (exprimé par rapport au potentiel d'une électrode normale à hydrogène [156]), ce qui signifie que toutes les autres demi-équations de réduction ayant des potentiels supérieurs à 0.54 V ont une chance d'oxyder les ions iodures en diiode. Dans nos conditions, nous pouvons retirer toutes les demi-équations faisant intervenir des halogènes ou des métaux,

pour ne finalement garder que celles qui font intervenir les espèces présentes a priori dans l'eau et dans l'air, soit [156] :



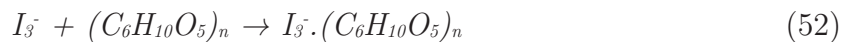
Dès que l'une des espèces oxydantes est en présence d'iodure, par exemple le peroxyde d'hydrogène, la réaction suivante se produit :



Le diiode ainsi formé réagit avec les ions iodures tel que :



Finalement, l'ion triiodure et l'amidon forme un complexe tel que :



Ce complexe absorbe fortement à 600 nm. Les principales limites de cette méthode reposent sur l'absence de sa sélectivité (nous ne pouvons pas attribuer la production du complexe à une espèce spécifique) ainsi que sur l'absence d'information sur la quantité générée de RONS, même totale. Il faut cependant garder à l'esprit que l'apparition du complexe final est principalement conditionnée par l'oxydant le plus fort, ici ce serait l'ozone dissous.

Un moyen permettant de s'assurer de la forte participation des RONS dans la complexification de l'amidon avec le triiodure est l'utilisation d'acide ascorbique. L'acide ascorbique est un puissant réducteur (antioxydant) permettant de désactiver tous les oxydants de notre solution, à savoir les RONS. A titre d'exemple, le peroxyde d'hydrogène se réduit en présence d'acide ascorbique de la manière suivante :



Si le complexe n'apparaît pas pendant le traitement, alors l'acide ascorbique a joué son rôle d'antioxydant. L'expérience a montré que l'acide ascorbique permet de supprimer totalement l'apparition du complexe.

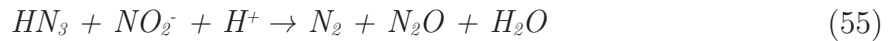
Réactif : solution KI + amidon.

Protocole : durant l'exposition de 12 mL de la solution KI + amidon, le suivi spatio-temporel de la création et de la propagation du complexe dans l'eau a été réalisé avec un appareil photo placé sous le cristallisateur et un autre appareil sur le côté. La plaque de cuivre à la masse, initialement placée sous le cristallisateur, a été retirée. La pince tenant le cristallisateur a été reliée à la masse afin de maintenir l'ensemble de l'expérience à la masse.

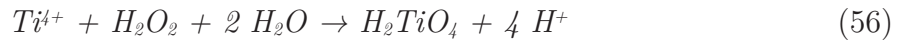
#### 4.2.4. Quantification des RONS en phase liquide

##### 4.2.4.1. Mesure du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ )

Le peroxyde d'hydrogène, qualifié de ROS, constitue l'une des espèces à longue durée de vie témoignant de la réactivité associée à un plasma, d'où l'intérêt de le mesurer en phase liquide. La méthode pour mesurer la concentration des peroxydes d'hydrogène se nomme méthode d'Eisenberg [157]. Comme les nitrites peuvent interférer avec le révélateur des  $H_2O_2$ , il est nécessaire d'utiliser de l'azoture de sodium afin de les neutraliser [70], [158] :



En milieu acide, ce qui est le cas ici, les ions  $Ti^{4+}$  forment un complexe jaune/orange avec l' $H_2O_2$  selon la réaction suivante :



Réactifs :  $NaN_3$ ,  $TiOSO_4$ .

Protocole : après exposition de 12 mL d'eau ultra-pure, 4 mL de l'échantillon a été mélangé avec 150  $\mu$ L de  $NaN_3$ . 2 mL de  $TiOSO_4$  a ensuite été ajouté. Une dizaine de minute est nécessaire pour que la coloration se développe pleinement. L'absorbance a été mesurée à 407 nm avec un lecteur automatique de plaques (Tecan, Infinite 200 Pro).

La courbe de calibration a été réalisée à l'aide de différentes concentrations connues d' $H_2O_2$ . La répétition de cette courbe de calibration plusieurs fois sur des jours différents permet d'augmenter la précision sur la pente qui nous sert à calculer la concentration des peroxydes d'hydrogène à partir de l'absorbance. La courbe de calibration moyennée est représentée sur la Figure 50.

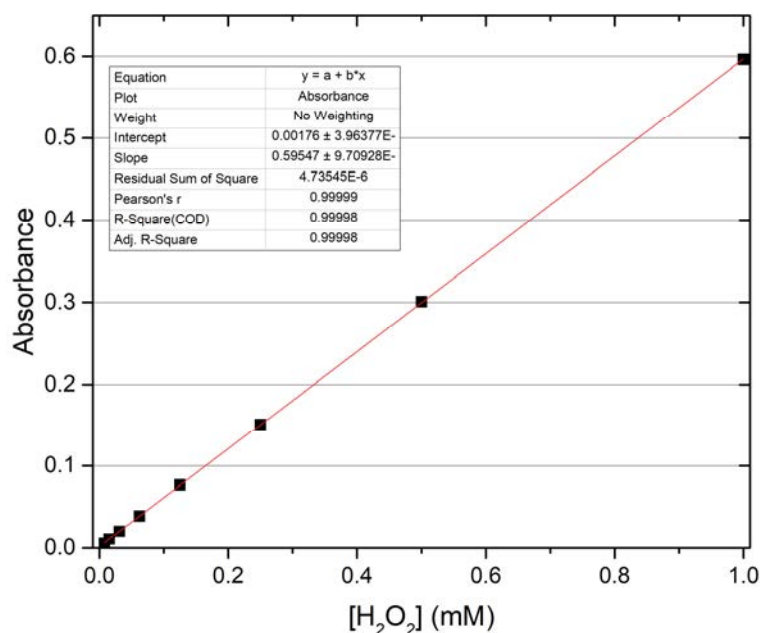


Figure 50 : Courbe de calibration des peroxydes d'hydrogène en phase liquide.

#### 4.2.4.2. Mesure des nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ) et des nitrates ( $\text{NO}_3^-$ )

De par leur caractère oxydant et leur relative longue durée de vie, les nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ) et les nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ), qualifiés de RNS, constituent des acteurs importants, tout comme les  $\text{H}_2\text{O}_2$ , dans les propriétés réactives que l'on attribue aux plasmas froids à pression atmosphérique. Mesurer leurs concentrations en phase liquide est donc un enjeu majeur dans la compréhension des effets du jet de plasma sur la chimie de la solution traitée.

La méthode pour mesurer la concentration de ces deux espèces repose sur un kit colorimétrique largement utilisé dans le domaine des plasmas grâce à sa bonne précision et sa reproductibilité [70], [159], [160].

Réactifs : Nitrate/Nitrite Colorimetric Assay Kit, PBS 10X.

Protocole pour mesurer les nitrites (d'après la documentation technique) : après exposition de 12 mL d'eau ultra-pure, 1 mL de PBS 10X a été ajouté à 9 mL de l'échantillon. 100  $\mu\text{L}$  de cette solution a été mélangé avec 50  $\mu\text{L}$  de réactif de Griess 1 et 50  $\mu\text{L}$  de réactif de Griess 2. Une dizaine de minute est nécessaire pour que la coloration se développe pleinement. L'absorbance a été mesurée à 540 nm avec un lecteur automatique de plaques.

Protocole pour mesurer les nitrates (d'après la documentation technique) : après exposition de 12 mL d'eau ultra-pure, 1 mL de PBS 10X a été ajouté à 9 mL de l'échantillon. 80  $\mu\text{L}$  de cette solution a été mélangé avec 10  $\mu\text{L}$  de la préparation de cofacteur de nitrate réductase et 10  $\mu\text{L}$  de la préparation d'enzyme de nitrate réductase. Un temps d'incubation d'une heure a ensuite été respecté, tout en plaçant les échantillons



dans le noir à température ambiante. 50  $\mu\text{L}$  de réactif de Griess 1 et 50  $\mu\text{L}$  de réactif de Griess 2 ont ensuite été ajoutés. Une dizaine de minute est nécessaire pour que la coloration se développe pleinement. L'absorbance a été mesurée à 540 nm avec un lecteur automatique de plaques.

La quantification des nitrates seuls n'est pas possible si on ne quantifie pas en même temps les nitrites. Toutes les mesures sont donc réalisées en double, l'une servira à mesurer les nitrites seuls, et l'autre à mesurer les nitrates et les nitrites.

Les courbes de calibration sont réalisées grâce aux échantillons de nitrites et de nitrates standards fournis dans le kit et sont représentées sur la Figure 51. Ces courbes sont réalisées plusieurs fois chacune sur des jours différents, puis moyennées afin d'améliorer la précision des données numériques (les pentes et les ordonnées à l'origine) qui serviront à nos mesures.

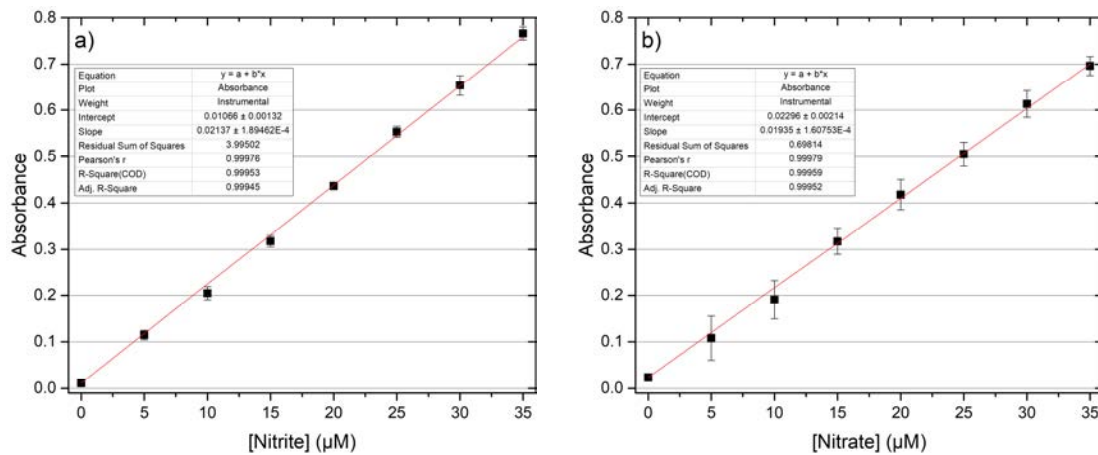


Figure 51 : Courbes de calibration des a) nitrites et des b) nitrates en phase liquide.

Il nous suffit ensuite d'appliquer les formules suivantes pour trouver les concentrations des nitrites et des nitrates dans chacune des solutions :

$$[\text{Nitrite} + \text{Nitrate}] (\mu\text{M}) = \left( \frac{A_{540} - y_{\text{intersection}_{\text{nitrate}}}}{a_{\text{nitrate}}} \right) \left( \frac{200 \mu\text{L}}{80 \mu\text{L}} \right) \quad (57)$$

$$[\text{Nitrite}] (\mu\text{M}) = \left( \frac{A_{540} - y_{\text{intersection}_{\text{nitrite}}}}{a_{\text{nitrite}}} \right) \left( \frac{200 \mu\text{L}}{100 \mu\text{L}} \right) \quad (58)$$

$$[\text{Nitrate}] = [\text{Nitrite} + \text{Nitrate}] - [\text{Nitrite}] \quad (59)$$

Où  $A_{540}$  est l'absorbance de la solution à 540 nm,  $y_{\text{intersection}}$  l'ordonnée à l'origine de la courbe de calibration considérée, et  $a$  sa pente.

La limite de détection maximale est de 35  $\mu\text{M}$ . Il est donc parfois nécessaire de diluer nos échantillons traités avec de l'eau ultra-pure avant d'ajouter les révélateurs.

#### 4.2.5. Préparation et quantification du bleu de méthylène

Le bleu de méthylène est utilisé comme un contaminant complexe modèle afin de quantifier le caractère oxydant que le jet de plasma possède.

Réactif : solution de bleu de méthylène.

Protocole : après exposition de 12 mL de solution de bleu de méthylène, son absorbance à 650 nm a été mesurée. L'écart entre l'absorbance après et avant le traitement a ainsi permis de connaître la proportion de bleu de méthylène ayant disparu après le traitement.

### 4.3. Conclusion

Le liquide a été caractérisé de plusieurs manières. Sa température et son pH ont été mesurés en même temps après le traitement par plasma. Le mélange contenant du KI/amidon a permis de suivre temporellement et spatialement le dépôt de plusieurs RONS en phase liquide. Les espèces réactives telles que les peroxydes d'hydrogène, les nitrites et les nitrates, ont été mesurées par des techniques colorimétriques. Enfin, la dégradation d'une molécule complexe telle que le bleu de méthylène a été quantifiée également par un relevé colorimétrique.

## 5. Matériel et méthodes microbiologiques

### 5.1. Matériel

#### 5.1.1. Substances chimiques

Les substances chimiques utilisées dans cette partie sont listées dans le Tableau 7.

Tableau 7 : Liste des substances chimiques.

Nom	Compagnie et numéro de catalogue
Acetic acid, 99.5%, pure	Acros Organics, #124040010
Acetone	Chem-Lab, #67-64-1
40% Acrylamide/Bis solution	Fisher Scientific, #1610148
Ammonium Persulfate (APS)	Bio-Rad, #1610700
QC Colloidal Coomassie Stain	Bio-Rad, #161-0803
Coomassie Brilliant Blue R-250	Bio-Rad, #161-0400
di-Sodium hydrogenophosphate 2H <sub>2</sub> O	Prolabo, #28029.292
0.5M EDTA pH 8.0	ThermoFisher Scientific, #00779564
Ethanol absolute	VWR, #64-17-5
Glycerol	Acros Organics, #158922500
Glycine, 98%, extra pure	Acros Organics, #120070010
Hydrochloric acid solution (6 mol/L)	Honeywell Fluka, #72033-1L
Lysosyme (50 mg/L)	ThermoFisher Scientific, #90082
Menadione	Sigma-Aldrich, #M9429-25G
2-Mercaptoethanol	Bio-Rad, #1610710
Nitro Blue Tetrazolium	Fisher Scientific, #BP108-1
PageRuler Prestained Protein Ladder, 10 to 180 kDa	ThermoFisher, #26616
Phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF)	Thermo Scientific, #36978
Phosphate Buffered Saline 10X (PBS)	Fisher BioReagents, #BP39-500
Propidium iodide (PI)	ThermoFisher Scientific, #P3566
Riboflavin	ThermoFisher Scientific, #BP167-50
SDS	Bio-Rad, #1610301
Sodium chloride	Fisher Scientific, #S/3160/60
Sodium phosphate, monobasic monohydrate, 99+%	Acros Organics, #207805000
Tris	Bio-Rad, #161-0716
Ultra-pure TEMED	ThermoFisher Scientific, #15524-010
XTT (2,3-Bis-(2-Methoxy-4-Nitro-5-Sulfophenyl)-2H-Tetrazolium-5-Carboxanilide)	ThermoFisher Scientific, #X6493

### 5.1.2. Milieux de culture

Les milieux de cultures utilisées sont listés dans le Tableau 8.

*Tableau 8 : Liste des milieux de culture.*

Nom	Compagnie et numéro de catalogue
Tryptic Soy Agar (TSA)	Difco, #236950
Tryptic Soy Broth (TSB)	Difco, #211825

### 5.1.3. Kits commerciaux

Les kits utilisés dans cette partie sont listés dans le Tableau 9.

*Tableau 9 : Liste des kits utilisés.*

Nom	Compagnie et numéro de catalogue
DC Protein assay	Bio-Rad, #500-0116
Lipid peroxidation (MDA) assay kit	Sigma-Aldrich, #MAK085
SOD determination kit	Sigma-Aldrich, #19160

### 5.1.4. Solutions et tampons

Les compositions de toutes les solutions et de tous les tampons ont été listées dans le Tableau 10.

*Tableau 10 : Liste des solutions et des tampons.*

Nom	Quantité finale	Recette
APS (10%)	1 mL	Ajouter 100 mg d'APS dans 1 mL d'eau ultra-pure.
Bleu de bromophénol (5%)	1 mL	Ajouter 50 mg de bleu de bromophénol dans 1 mL d'eau ultra-pure.
Coloration de gel natif (SOD)	40.17 mL	Mélanger 80 mg de NBT avec 40 mL d'eau ultra-pure. Ajouter 170 $\mu$ L de TEMED et 8 $\mu$ L de riboflavin (5.3%).
Gel de polyacrylamide (4%) (Native PAGE)	10 mL	Mélanger 1 mL d'acrylamide à 40%, 2.5 mL de Tris-HCl (pH 6.8), 100 $\mu$ L d'APS à 10%, 10 $\mu$ L de TEMED et 6.3 mL d'eau ultra-pure.

Gel de polyacrylamide (12%) (Native PAGE)	36.17 mL	Mélanger 10.92 mL d'acrylamide à 40%, 4.5 mL de Tris-HCl (pH 8.8), 136 µL d'APS à 10%, 18 µL de TEMED et 20.6 mL d'eau ultra-pure.
PBS 1X	800 mL	Mélanger 80 mL de PBS 10X dans 720 mL d'eau ultra-pure. Autoclaver la solution.
PMSF	10 mL	Ajouter 17.4 mg de PMSF dans 10 mL d'isopropanol 100%.
Riboflavin (0.004%)	50 mL	Ajouter 2 mg de riboflavin dans 50 mL d'eau ultra-pure.
Riboflavin (5.3%)	1 mL	Ajouter 0.0621 g de sodium phosphate, monobasic monohydrate et 1.2195 g de di-Sodium hydrogenophosphate 2H <sub>2</sub> O dans 100 mL d'eau ultra-pure. Ajouter 0.053 g de riboflavin dans 1 mL du mélange précédent.
Solution de fixation (SDS-PAGE)	1 L	Mélanger 400 mL d'éthanol, 100 mL d'acide acétique et 500 mL d'eau ultra-pure.
Solution saline (0.9 %)	800 mL	Ajouter 7.2 g de NaCl dans 800 mL d'eau. Autoclaver la solution.
Tampon de chargement des échantillons (SOD)	20.2 mL	Mélanger 10 mL de Tris (pH 6.8), 10 mL de glycérol et 200 µL de bleu de bromophénol à 0.004%.
Tampon Electrophorèse (SOD)	1 L	Ajouter 6.06 g de Tris, 22.5 g de glycine et 4.6 mL d'EDTA dans 800 mL d'eau ultra-pure. Ajuster le pH avec de l'acide chlorhydrique pour qu'il atteigne 8.3. Compléter le volume de la solution jusqu'à 1 L avec de l'eau ultra-pure.
Tampon lyse	100 mL	Ajouter 1.16 g de NaCl dans 5 mL de Tris-HCl (pH 7.5) et 5 mL de glycérol. Ajuster le volume jusqu'à 100 mL avec de l'eau ultra-pure. Filtrer la solution.
Tampon pré-électrophorèse (SOD)	1 L	Ajouter 22.76 g de Tris et 2.6 mL d'EDTA dans 800 mL d'eau ultra-pure. Ajuster le pH avec de l'acide chlorhydrique pour qu'il atteigne 8.8. Compléter le volume de la solution jusqu'à 1 L avec de l'eau ultra-pure.

Tampon SDS-PAGE 10X	1 L	Ajouter 144 g de glycine, 30 g de Tris et 10 g de SDS dans 1 L d'eau ultra-pure.
Tampon SDS-PAGE	1 L	Mélanger 100 mL de SDS-PAGE buffer 10X avec 90 mL d'eau ultra-pure.
Tris-HCl (pH 7.5)	500 mL	Ajouter 60.57 g de Tris dans 400 mL d'eau ultra-pure. Ajuster le pH avec de l'acide chlorhydrique pour qu'il atteigne 7.5. Compléter le volume de la solution jusqu'à 500 mL avec de l'eau ultra-pure.
Tris-HCl-EDTA (pH 6.8)	100 mL	Ajouter 6.19 g de Tris et 1.6 mL d'EDTA dans 80 mL d'eau ultra-pure. Ajuster le pH avec de l'acide chlorhydrique pour qu'il atteigne 6.8. Compléter le volume de la solution jusqu'à 100 mL avec de l'eau ultra-pure.
Tris-HCl-EDTA (pH 8.8)	100 mL	Ajouter 18.17 g de Tris et 1.6 mL d'EDTA dans 80 mL d'eau ultra-pure. Ajuster le pH avec de l'acide chlorhydrique pour qu'il atteigne 8.8. Compléter le volume de la solution jusqu'à 100 mL avec de l'eau ultra-pure.
XTT	10.1 mL	Ajouter 55 mg de ménadione dans 100 mL d'acétone. Ajouter 4 mg de XTT dans 10 mL d'eau ultra-pure. Mélanger 100 µL de la solution de ménadione avec 10 mL de la solution de XTT.

#### 5.1.5. Souche bactérienne

La souche bactérienne utilisée est *E. coli* K12 ATCC 47076 obtenue de l'American Type Culture Collection (Manassas, Virginia, USA). Les bactéries ont été cultivées en respectant les indications du fournisseur dans du bouillon tryptone-soja.

## 5.2. Méthodes

### 5.2.1. Mesures et incertitudes

Chacune des mesures a été réalisée trois fois. La moyenne de ces trois mesures est ensuite effectuée, et l'incertitude correspond à leur écart-type. L'analyse de la variance associée à plusieurs valeurs a été réalisée en utilisant la méthode « ANOVA one-way », déterminée avec OriginLab. Dans ce cas, la significativité statistique  $p$  est fixée à 0.05.

### 5.2.2. Conservation de la souche bactérienne

La conservation de longue durée de la souche bactérienne a été réalisée dans des tubes Microbank (Pro-Lab Diagnostics) contenant des billes de verre poreuses. Ils ont été inoculés avec la culture *E. coli* en respectant les indications du fournisseur. Les tubes ont ensuite été conservés dans des boîtes de congélation à -80 °C.

### 5.2.3. Culture de la souche bactérienne

Des bactéries stockées dans des cryotubes ont été transférées dans 50 mL de bouillon tryptone-soja (TSB). La culture a ensuite été incubée pendant 15 heures à 37 °C et à 200 rpm (révolutions par minute). La suspension a été utilisée pour isoler des colonies sur des plaques de gélose tryptone-soja (TSA). Ces dernières ont été incubées pendant 24 heures à 37 °C. Ainsi, la suspension mère a été obtenue à partir d'une colonie s'étant développée sur le milieu TSA précédent, par inoculation de 50 mL de TSB. Cette nouvelle culture a été placée à l'incubateur sous une agitation orbitale de 200 rpm pendant 3 heures (fin de la phase exponentielle) ou pendant 15 heures (phase stationnaire).

### 5.2.4. Traitement des bactéries par plasma

La suspension mère a été lavée trois fois avec une solution saline stérile, de manière à retirer le milieu de culture tout en conservant les bactéries. Pour cela, la culture a été centrifugée pendant 10 minutes à 3000 g et à 4 °C. Le surnageant a été retiré tandis que les cellules ont été suspendues dans de la solution de saline stérile.

La suspension lavée a été utilisée pour obtenir une suspension de travail dont la densité optique à 600 nm est de 0.1 ou de 1 selon l'objectif de l'expérience. Une densité optique de 0.1 correspond à une concentration d'environ  $8 \cdot 10^7$  CFU.mL<sup>-1</sup> [161]. Une suspension bactérienne dont la densité optique égale à 0.1 a été utilisée pour les études concernant la survie bactérienne, la perméabilisation des membranes, ainsi que la microscopie électronique à balayage. Une partie des expériences réalisées, notamment celles portant sur les études des protéines intracellulaires et de la peroxydation des lipides membranaires, a nécessité l'utilisation de suspensions bactériennes de densité optique égale à 1. Cette différence de densité optique initiale a été contrainte par les méthodes utilisées nécessitant des concentrations bactériennes précises pour pouvoir donner des résultats optimaux. A titre d'exemple, la gamme de fonctionnement de la perméabilité des membranes par l'utilisation de l'iodure de propidium nécessite une densité optique de 0.1, alors que la quantification des protéines totales nécessite une concentration en protéine plus élevée, telle que la densité optique est de 1.

Finalement, un volume de 12 mL de suspension bactérienne a été transféré dans un cristalliseur stérile afin de procéder aux traitements par le plasma.

### 5.2.5. Evaluation de la viabilité cellulaire

La viabilité cellulaire a été évaluée par dénombrement sur milieu solide.

Réactifs : solution saline, PBS 10X, TSA.

Protocole : après l'exposition au plasma, 10 mL de la suspension ont été récupérés dans un tube stérile et 1 mL de PBS 10X stérile a été ajouté, de manière à désactiver les espèces réactives générées par le plasma et présentent dans le liquide. La suspension a été centrifugée pendant 10 minutes à 3000 g et à 4 °C, et le sédiment a été suspendu dans 10 mL de solution saline stérile. Des dilutions décimales en série ont été effectuées à partir de la suspension initiale. Chaque dilution a été inoculée sur de la gélose TSA. Le comptage des colonies a été réalisé après une incubation de 24 heures à 37 °C et a été exprimé en CFU.mL<sup>-1</sup>.

### 5.2.6. Evaluation des lésions sous-létales des bactéries

Une technique pour mettre en évidence les lésions sous-létales des bactéries consiste à inoculer les microorganismes sur un milieu de culture restrictif. Ce milieu a été obtenu en ajoutant du chlorure de sodium (NaCl) à la gélose TSA. On appelle « lésion sous-létale » toute lésion provoquée par un processus physique ou chimique endommageant une bactérie, sans la tuer. Cette lésion peut être définitive ou non [162]. Afin de déterminer la concentration maximale de NaCl pouvant être ajoutée à la gélose sans affecter le développement des bactéries saines, des dilutions en série d'une suspension d'*E. coli* non exposée au plasma ont été inoculées sur des plaques de gélose TSA contenant entre 1 et 5% de NaCl comme l'indique la Figure 52. Après une incubation de 24 heures à 37 °C, le dénombrement des colonies a montré qu'une concentration maximale de 3% de sel n'affecte pas le développement de cette souche d'*E. coli*.

Ainsi, pour la suite de l'étude, l'évaluation des lésions sous-létales a été réalisée en utilisant des plaques de gélose TSA + 3% NaCl. Les bactéries saines ont des tailles plus petites sur les plaques de gélose TSA + NaCl comme la présence du sel ralentit leur croissance.

Réactifs : solution saline, PBS 10X, TSA, chlorure de sodium.

Protocole : identique à celui utilisé pour l'évaluation de la viabilité cellulaire, excepté l'utilisation d'un milieu restrictif contenant 3% de NaCl.



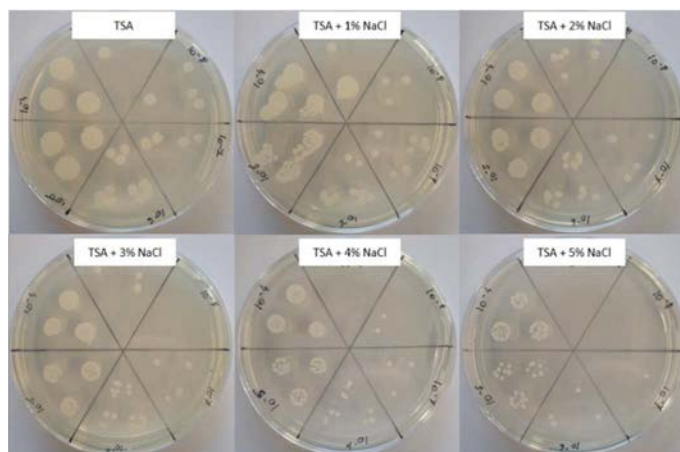


Figure 52 : Détermination du pourcentage de NaCl à ajouter à la gélose tryptone-soja. Les géloses TSA et TSA + 3% NaCl présentent le même nombre de colonies, ce qui n'est plus le cas pour un pourcentage de NaCl plus élevé.

### 5.2.7. Evaluation de la respiration cellulaire

L'étude de la viabilité cellulaire par l'évaluation de la respiration cellulaire a également été menée. De la même manière que pour l'étude de la survie bactérienne sur TSA où une bactérie peut former une colonie, la mesure de la respiration cellulaire nécessite que la bactérie soit vivante, en plus d'être capable d'avoir une activité respiratoire. L'évaluation de cette respiration a été réalisée à l'aide du composé 2,3-bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulphophenyl)-5-[(phenylamino)-carbonyl]-2H-tetrazolium, aussi appelé XTT [163]. Dans le cas où la bactérie possède une activité respiratoire, le XTT est réduit par les enzymes issues de la chaîne respiratoire localisées dans la membrane cytoplasmique [164], avant d'être transformé en un produit coloré dérivé du formazan tel que représenté sur la Figure 53.



Figure 53 : Réduction du XTT en un produit dérivé du formazan [165].

Réactifs : solution saline stérile, PBS 10X, PBS 1X, solution XTT.

Protocole : après l'exposition au plasma, 10 mL de la suspension ont été récupérés dans un tube stérile et 1 mL de PBS 10X stérile a été ajouté. La suspension a été centrifugée pendant 10 minutes à 3000 g et à 4 °C, et le sédiment a été suspendu dans 1 mL de PBS 1X. 200 µL de cette suspension ont été mélangés avec 200 µL de la solution de XTT. Après 3 heures d'incubation à 37 °C dans le noir, les échantillons ont été centrifugés à

13000 g pendant 10 minutes à 4 °C. Finalement, l'absorbance du surnageant a été mesurée à 486 nm avec un lecteur automatique de plaques.

### 5.2.8. Modèles cinétiques

Des modèles cinétiques sont souvent utilisés pour décrire l'évolution de la survie des bactéries en fonction du temps de traitement [166], [167]. Comme résumé dans ces deux articles, plusieurs modèles peuvent être appliqués selon l'allure de l'inactivation bactérienne obtenue par la méthode de comptage des colonies sur gélose. Ces différents modèles sont représentés sur la Figure 54.

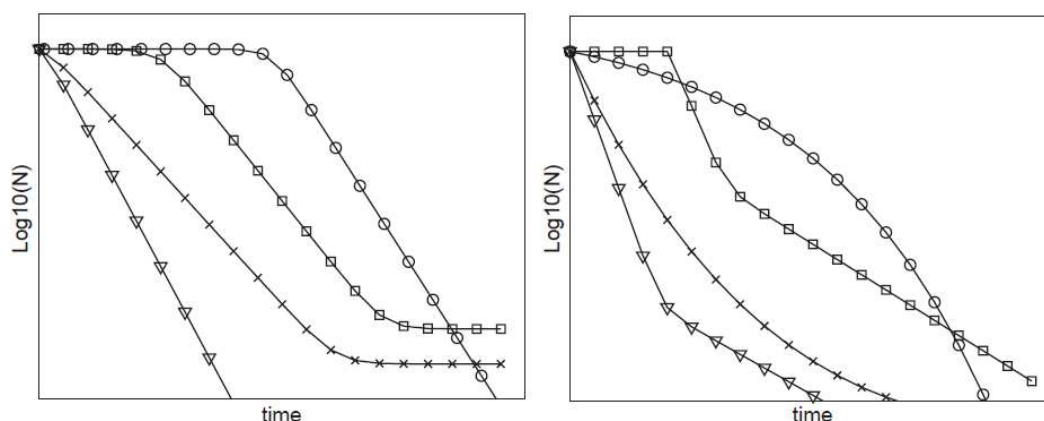


Figure 54 : Modèles théoriques pouvant décrire l'inactivation des bactéries avec l'augmentation du temps de traitement. A gauche : linéaire (triangles), linéaire avec queue (croix), forme sigmoïde (carrés), linéaire après un coude (ronds) – à droite : biphasique (triangles), concave (croix), biphasique après un coude (carrés), convexe (ronds) [166].

L'un des modèles les plus communs correspond au modèle de Chick [168] qui a noté que les courbes de survie des bactéries peuvent avoir une simple décroissance logarithmique. Seulement, l'évolution de la survie des bactéries est souvent plus complexe et tend à dévier de cette évolution linéaire. La rapidité de l'inactivation peut en effet varier dans le temps. A titre d'exemple, le modèle de Geeraerd [169] permet de corriger ce problème en introduisant une population de bactérie dont l'inactivation est plus lente.

Ainsi, selon l'allure de la courbe de survie obtenue, il est nécessaire d'adapter le modèle cinétique en se référant à ceux représentés sur la Figure 54. Pour cela, il existe un module nommé GInaFit [166] disponible sur Microsoft Excel, permettant d'effectuer n'importe quel ajustement présenté sur la Figure 54. C'est cet outil qui sera utilisé dans ce travail pour ajuster les courbes de survie obtenues avec un modèle cinétique.

### 5.2.9. Microscopie électronique à balayage (MEB)

Un microscope électronique à balayage (Quanta 250 FEG) a été utilisé pour révéler la morphologie externe des bactéries après leur traitement par plasma. L'utilisation de ce type de microscope est nécessaire si l'on veut obtenir des images suffisamment bien résolues spatialement lors du ciblage d'un petit groupe ou d'une seule bactérie. Les microscopes optiques ne permettent pas d'atteindre de telles échelles spatiales. Le principe repose sur la focalisation d'un faisceau d'électrons primaires sur l'échantillon. Ces électrons interagissent avec la cible en éjectant d'autres électrons (appelés électrons secondaires) par diffusion inélastique des bandes de valence ou de conduction des espèces présentes sur la cible. Ils sont ensuite attirés jusqu'à un photomultiplicateur afin de les convertir en signal lumineux. Une image en 2D est finalement obtenue après que le faisceau d'électron initial ait scanné la totalité de l'échantillon. Le contraste entre les bactéries et le fond, ainsi que l'intensité lumineuse de l'image, peuvent être ajustés électriquement pour obtenir un meilleur rendu de l'image.

Réactifs : solution saline, PBS 10X, PBS 1X, 2% de glutaraldéhyde dans un tampon Sorensen (0.1 M, pH = 7.4).

Protocole : après l'exposition au plasma, 10 mL de la suspension ont été récupérés dans un tube stérile et 1 mL de PBS 10X stérile a été ajouté. La suspension a été centrifugée pendant 10 minutes à 3000 g et à 4 °C, et le sédiment a été suspendu dans 1 mL de PBS 1X. Après une nouvelle centrifugation à 13000 g pendant 10 minutes à 4 °C, 1 mL de 2% de glutaraldéhyde a été ajouté au sédiment de chaque échantillon. L'échantillon a ensuite été rincé à l'eau distillée. La suspension a été déposée sur des lames enduites de polylysine. Après la déshydratation et le séchage de l'échantillon, celui-ci a été installé sur un embout prévu pour le microscope, avant de subir une pulvérisation cathodique de platine (Leica EM MED020). Finalement, l'échantillon a été observé au MEB à une tension d'accélération comprise entre 5 et 10 kV. La préparation des échantillons ainsi que leurs observations ont été réalisées au CMEAB à Toulouse.

### 5.2.10. Perméabilité des cellules à l'iodure de propidium (IP)

L'iodure de propidium ou IP est un agent intercalant des acides nucléiques (ADN ou ARN) couramment utilisé comme marqueur de l'ADN des cellules ayant perdu leur intégrité membranaire. Une fois l'IP lié à l'ADN, sa fluorescence est renforcée d'un facteur 20 à 30. Dans cette étude, l'IP a été utilisé pour évaluer l'intégrité membranaire des bactéries.

Réactifs : solution saline, PBS 10X, IP.

Protocole (d'après la documentation technique) : après l'exposition au plasma, 10 mL de la suspension ont été récupérés dans un tube stérile et 1 mL de PBS 10X stérile a été ajouté. La suspension a été centrifugée pendant 10 minutes à 3000 g et à 4 °C, et le sédiment a été suspendu dans 10 mL de solution saline. 1 µL d'IP a été ajouté à 1 mL d'échantillon. Le mélange a ensuite été incubé pendant 5 minutes dans le noir. Après incubation, la fluorescence des échantillons (excitation à 488 nm et émission à 630 nm) a été mesurée avec un lecteur automatique de plaques.

#### 5.2.11. Dosage des marqueurs de la peroxydation lipidique

La peroxydation des lipides est un témoin de l'attaque oxydante des RONS sur les parois des bactéries. Les lipides polyinsaturés sont dégradés en produisant plusieurs composés dont le malondialdéhyde (MDA) que l'on peut quantifier à l'aide de l'acide thiobarbiturique (TBA), afin de former un produit coloré tel que représenté sur la Figure 55.

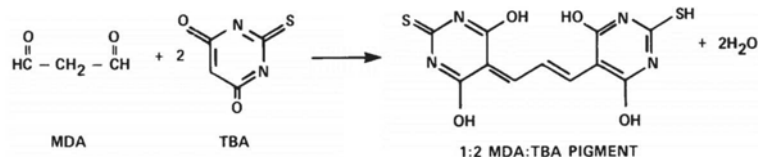


Figure 55 : Formation du produit coloré après réaction entre le MDA et le TBA [170].

Réactifs : PBS 10X, PBS 1X, lipid peroxidation (MDA) assay kit.

Protocole (d'après la documentation technique) : après l'exposition au plasma, 10 mL de la suspension ont été récupérés dans un tube stérile et 1 mL de PBS 10X stérile a été ajouté. La suspension a été centrifugée pendant 10 minutes à 3000 g et à 4 °C, et le sédiment a été suspendu dans 1 mL de PBS 1X. Après une nouvelle centrifugation à 13000 g pendant 10 minutes à 4 °C, le sédiment est suspendu dans 297 µL de tampon lyse et 3 µL d'hydroxytoluène butylé (BHT). L'ensemble a été ensuite centrifugé à 13000 g pendant 10 minutes à 4 °C de manière à récupérer 200 µL du surnageant afin d'y ajouter 600 µL de TBA. Le mélange a été incubé dans un bain marie à 95 °C pendant 60 minutes. Après refroidissement sur de la glace pendant 10 minutes, l'absorbance a été mesurée à 532 nm avec un lecteur automatique de plaques.

Une courbe de calibration classique de MDA est représentée sur la Figure 56.

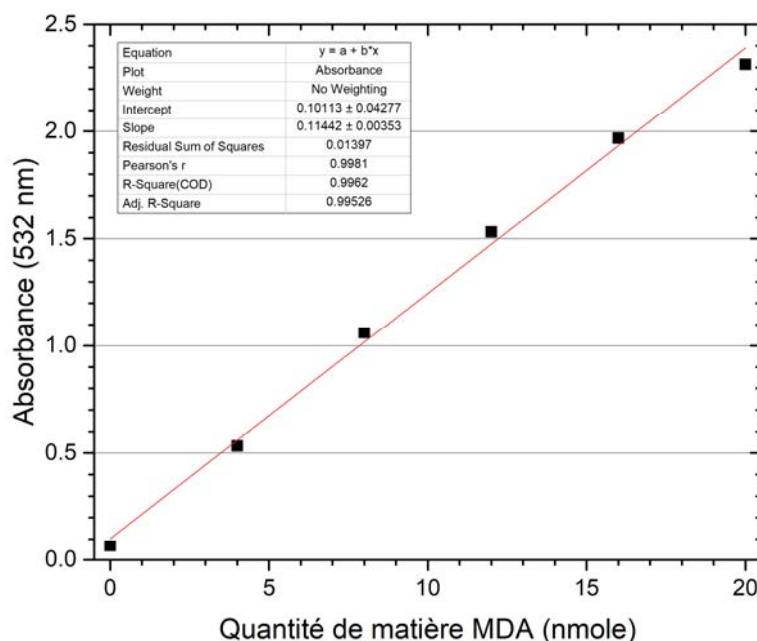


Figure 56 : Courbe de calibration de la concentration en MDA.

## 5.2.12. Techniques biochimiques

### 5.2.12.1. Extraction des protéines

Les protéines contenues dans les bactéries peuvent être quantifiées en détruisant leur membrane plasmique grâce à la lyse bactérienne. Le lysozyme est un composé qui permet de casser les membranes externe et interne des bactéries.

Réactifs : PBS 10X, tampon lyse, PMSF, lysozyme.

Protocole : deux suspensions de 10 mL sont exposées au plasma puis rassemblées dans un tube stérile contenant 2 mL de PBS 10X stérile. La suspension a été centrifugée pendant 10 minutes à 3000 g et à 4 °C, et le sédiment a été suspendu dans un tube stérile contenant 1 mL de tampon lyse et 0.5 g de microbilles en verre (BioSpec, 0.5 mm diameter glass beads). 10 µL de PMSF et 6 µL de lysozyme sont ajoutés à la suspension avant de la laisser incuber pendant 3 heures sur de la glace. Les échantillons ont ensuite subi quatre passages de 15 secondes à 5 m.s<sup>-1</sup> dans un broyeur à billes (Fisher Scientific, Bead Mill 4), espacés de 1 minute sur de la glace. L'ensemble a été refroidie sur de la glace pendant 5 minutes. Après avoir retiré les billes, les échantillons sont centrifugés à 13000 g pendant 10 minutes à 4 °C. Chaque surnageant est placé à -20 °C.

### 5.2.12.2. Dosage des protéines totales

La quantité de protéines totale est estimée selon la technique mise au point par *Bradford* [171] en utilisant le kit DC protein assay et l'albumine de sérum bovin (BSA) pour effectuer la calibration des protéines.

Réactifs : DC protein assay.

Protocole (d'après la documentation technique) : 5 µL d'échantillon ont été mélangés avec 25 µL de solution alcaline de tartrate de cuivre et 200 µL de réactif de Folin. Après une incubation de 15 minutes à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 750 nm avec un lecteur automatique de plaques.

#### 5.2.12.3. Séparation des protéines par électrophorèse sur gel de polyacrylamide en conditions dénaturantes (SDS-PAGE)

L'électrophorèse consiste à séparer les protéines d'un échantillon en les faisant migrer sur un gel, à la suite de l'application d'une différence de potentiel entre ses deux extrémités.

Réactifs : PageRuler Prestained Protein Ladder 10 to 180 kDa, solution de fixation (SDS-PAGE), tampon SDS-PAGE, Coomassie Brilliant Blue R-250.

Protocole : la séparation des protéines par SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate - Polyacrylamide Gel Electrophoresis) a été réalisée à l'aide d'un gel 4 - 20% Mini-Protean TGX (Bio-Rad). Les échantillons de protéines ont été dilués dans du tampon de charge 6X puis dénaturés avec du 2-mercaptoéthanol pendant 5 min à 100 °C. Les échantillons ont été préparés de manière à déposer 20 µg de protéines totales dans chaque puit du gel. L'échantillon contenant l'échelle de masse moléculaire (PageRuler Prestained Protein Ladder) a été chargé sur le gel en même temps que les échantillons. La migration a été réalisée dans une cuve d'électrophorèse Mini-Protean Tetra Cell (Bio-Rad) contenant un tampon de SDS-PAGE, à une tension constante de 200 V. La fin de l'électrophorèse est marquée par l'arrivée du front de migration au niveau du bord inférieur du gel. Le gel a été transféré dans une solution de fixation puis installé sur un dispositif tournant pendant 15 minutes. Le gel a ensuite été rincé à l'eau ultra-pure puis placé dans une solution de 0.1 % de bleu de Coomassie sous agitation pendant 10 heures afin de révéler le profil des protéines. L'excès de bleu a finalement été éliminé par un rinçage à l'eau ultra-pure.

La mobilité relative de chaque bande de l'échelle peut être calculée en utilisant la relation suivante :

$$\text{mobilité relative (\%)} = \frac{\text{distance de migration d'une bande}}{\text{distance de migration du front de migration}}$$

Ainsi, la masse moléculaire d'une bande apparaissant sur le gel peut être déterminée à l'aide de la courbe de calibration représentée sur la Figure 57.

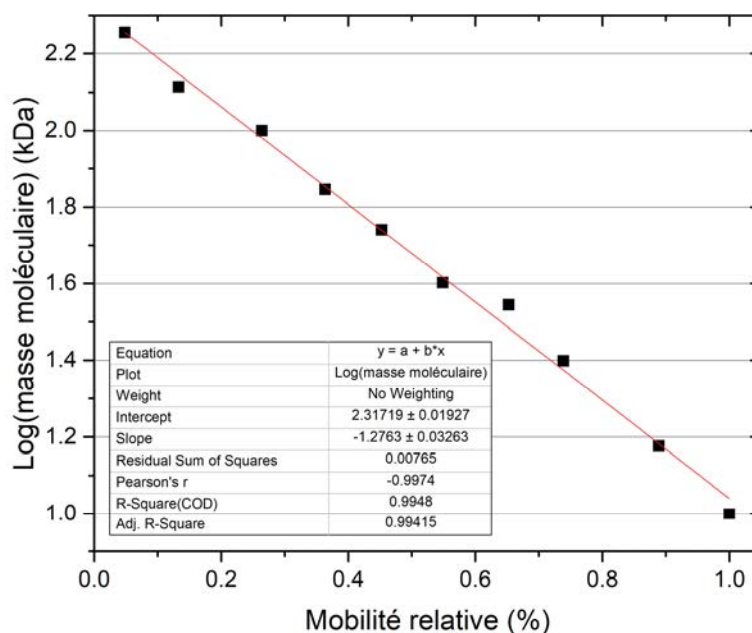


Figure 57 : Courbe de calibration de la masse moléculaire des protéines en fonction de leur mobilité relative obtenue avec l'échelle de protéine.

#### 5.2.12.4. Dosage de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD)

Chez les bactéries à Gram négatif, et en particulier chez les *E. coli*, trois types de SOD existent et sont différenciés par leur site actif : Fe-SOD (masse moléculaire = 21.266 kDa [172]), Mn-SOD (23.097 kDa [173]) et Cu/Zn-SOD (17.681 kDa [174]). Dans cette étude, le dosage de la SOD est réalisé par une méthode indirecte en utilisant un sel de tétrazolium (WST-1 (2-(4-Iodophenyl) - 3 - (4-nitrophenyl) - 5 - (2,4-disulfophenyl) - 2H - tétrazolium) produisant un colorant hydrosoluble en présence d'anion superoxyde, tel que représenté sur la Figure 58.

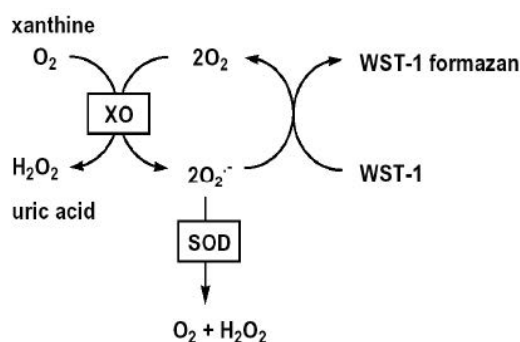


Figure 58 : Formation du colorant hydrophile après réaction entre le sel de tétrazolium et l'anion superoxyde [175].

Réactifs : SOD determination kit.

Protocole (d'après la documentation technique) : 20  $\mu$ L d'échantillon ont été mélangés avec 200  $\mu$ L de solution WST-1 et 20  $\mu$ L de solution enzymatique. Après incubation à



37 °C pendant 20 minutes, l'absorbance à 450 nm a été mesurée avec un lecteur automatique de plaques.

#### 5.2.12.5. Visualisation de l'activité de la SOD par zymographie

Le principe de révélation des SOD par zymographie diffère de l'électrophorèse qui permet de révéler toutes les protéines sans distinction d'un échantillon. La principale différence provient de l'état initial dans lequel les protéines sont insérées dans le gel. En effet, leur état natif est conservé afin qu'elles conservent leur activité enzymatique. Ainsi, le gel pourra révéler les zones où ont eu lieu l'activité enzymatique, contrastant avec les zones où elle n'a pas eu lieu.

Réactifs : gel de polyacrylamide (12%) (Native PAGE), gel de polyacrylamide (4%) (Native PAGE), tampon de chargement des échantillons (SOD), tampon pré-électrophorèse, coloration de gel natif (SOD), tampon électrophorèse.

Protocole (selon *Weydert et Cullen* [176]) : la séparation des protéines a été effectuée à l'aide d'un gel de séparation à 12% d'acrylamide. Un gel de concentration à 4% a été déposé en haut du gel de séparation pour permettre une entrée homogène des échantillons dans le gel de séparation. Les gels ont été placés dans la boîte d'électrophorèse avec un tampon pré-électrophorèse. L'électrophorèse est lancée pendant 1 heure à 40 mA et à 4 °C. Des systèmes d'ultrafiltration ayant un MWCO (molecular weight cut-off) de 10 kDa (Thermo Scientific) ont été utilisés pour concentrer les protéines totales dans les échantillons. Les échantillons (dont le volume est adapté pour qu'ils contiennent 25 µg de protéines totales) et les échantillons de SOD standards ont été mélangés avec le même volume de tampon de charge. L'électrophorèse a été réalisée dans un tampon de pré-électrophorèse à 4 °C et 40 mA pendant 3 heures dans une cuve d'électrophorèse. Ce tampon a ensuite été remplacé par un tampon d'électrophorèse. L'électrophorèse a de nouveau été lancée à 4 °C et 40 mA jusqu'à ce que le front de migration atteigne le bord inférieur du gel. Les gels ont ensuite été retirés de leur support afin de les plonger dans une solution de coloration de gel natif, sous agitation pendant 20 minutes dans le noir. Les gels ont été lavés deux fois pendant 10 minutes avec de l'eau ultra-pure puis exposés à la lumière blanche pendant un temps allant de 15 minutes à 2 heures. Un nouveau lavage à l'eau ultra-pure a été réalisé pendant 10 minutes. Pour augmenter le contraste entre les bandes achromatiques et le fond violet, les gels ont été placés à la lumière ambiante pendant 24 heures.

### 5.3. Conclusion

Les effets du jet de plasma sur les bactéries *E. coli* K12 sont caractérisés à l'aide de plusieurs outils. Leur survie, révélée par leur capacité à produire des colonies sur gélose



TSA ou par leur activité respiratoire (XTT), a ainsi été caractérisée. Afin de signaler des changements de l'état morphologique des bactéries après leur traitement par le plasma, la microscopie électronique à balayage, la perméabilité membranaire et la peroxydation des lipides membranaires, ont été utilisées. Les protéines intracellulaires sont également étudiées afin de mieux comprendre les systèmes d'auto-défenses déployés par les bactéries lors de l'apparition d'un stress extérieur tel que les agents oxydants fournis par le plasma. Dans ce cas, l'étude des trois superoxydes dismutases présentent dans les *E. coli* font l'objet d'une attention particulière.

## **Chapitre 3 - Influences physico-chimiques d'une cible liquide sur le jet de plasma**

## 1. Introduction

L'étude des jets de plasma froid à pression atmosphérique a débuté il y a une vingtaine d'année environ. Le jet de plasma a été sondé de nombreuses et différentes manières afin de mieux comprendre les mécanismes fondamentaux qui le gouvernent. Ainsi, la propagation du plasma dans l'air ou dans une atmosphère contrôlée (par exemple un « shielding gas », confinant le jet de plasma dans un environnement que l'utilisateur fixe [70], [177]), ainsi que les mécanismes de production des espèces lors du mélange entre le plasma et son environnement, ont pu être mieux comprises. Toutes ces études ont permis d'acquérir une meilleure compréhension des mécanismes réactionnels ayant lieu au sein du plasma. Un vaste domaine d'application a pu voir le jour grâce aux possibilités que pouvaient offrir ces plasmas. La plus grande partie de ces applications repose sur l'application du plasma sur une cible, qu'elle soit solide (traitement de surface pour la stérilisation par exemple [116], [178]) ou liquide (dépollution de l'eau notamment [82], [84]). L'étude des plasmas en « freejet », c'est-à-dire sans qu'il n'y ait de cible traitée par le plasma, a laissé la place à l'étude des plasmas en interaction avec des cibles pour pouvoir se rapprocher le plus possible de l'application envisagée. Un constat majeur a ainsi été fait dans la communauté scientifique : les propriétés physico-chimiques du plasma sont différentes en fonction de la cible traitée. La nature du matériau, son état (liquide ou solide), sa position sous le plasma, etc., sont à l'origine des changements observés sur les mécanismes réactionnels qui ont lieu au sein du plasma.

Pour se convaincre de l'apparition d'une telle différence de mécanismes réactionnels entre le cas freejet et le cas avec cible, des mesures ont été réalisées avec une caméra iCCD munies de filtres interférentiels. Afin d'observer l'ensemble du plasma à l'intérieur et à l'extérieur de la source grâce à la caméra, les électrodes en aluminium (électrodes de masse et haute tension) ont été remplacées temporairement par des électrodes en cuivre dont le maillage est suffisamment fin pour les rendre quasiment transparentes. Un effet de flou peut apparaître lorsque le plasma est visualisé à travers ces électrodes. Le cristalliseur est en quartz afin de collecter tous les photons disponibles, même si le jet de plasma est observé à travers celui-ci.

La Figure 59 présente la propagation des émissions visibles du plasma par la caméra, à l'intérieur et à l'extérieur de la source, en freejet et avec la surface du liquide à 6 mm du bord de la sortie de la source. Le nombre d'accumulation du cas freejet est deux fois plus grand que le cas avec cible. Seul le plasma généré pendant le front montant de l'impulsion est représenté. Pour chaque image, les intensités lumineuses sont normalisées par rapport au maximum d'intensité de l'image considérée. La normalisation ne s'effectue pas de

manière globale sur une série de mesure car seule la partie du plasma à l'air libre serait visible, en plus de n'apparaître que sur certaines images.

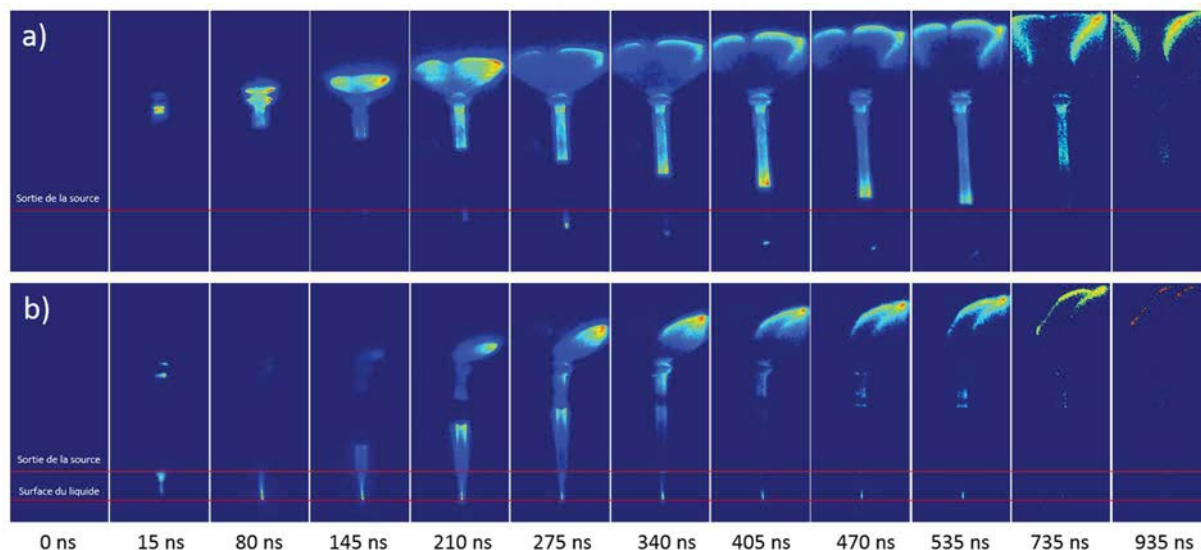


Figure 59 : Vues globales de la propagation du plasma à l'intérieur et à l'extérieur de la source en a) freejet et b) avec une cible liquide à 6 mm du bord de la sortie de la source, obtenue avec la caméra iCCD (temps d'intégration d'une image = 5 ns, aucun filtre interférentiel, front montant).

Le plasma est plus lumineux dans le cas où la cible est présente, comme en témoigne l'accumulation qui a été divisée par deux par rapport au cas freejet. De plus, la présence de la cible renforce spécifiquement les émissions lumineuses de la partie du plasma à l'extérieur de l'enceinte (plume). En effet, le front d'ionisation à l'origine de la création du jet de plasma est visible dès les premiers instants de l'allumage du plasma dans le cas où une cible est présente (15 ns) alors qu'il devient visible bien plus tard en freejet (145 ns).

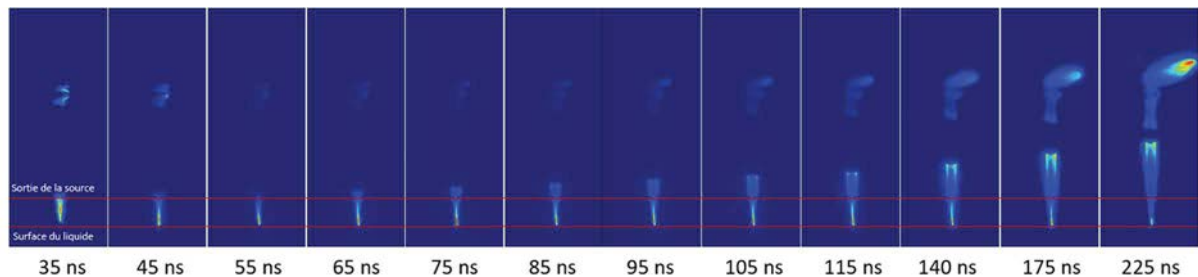
Le nombre de fronts visibles est variable selon le cas étudié. Trois fronts sont communs entre les deux cas :

- l'un démarre du bas de l'électrode de masse et se propage vers le haut de la source ;
- un autre commence en haut de l'électrode haute tension et se dirige vers le bas de la source ;
- le troisième correspond au front d'ionisation qui se propage dans l'air depuis le bas de l'électrode haute tension, jusqu'à toucher la surface du liquide (si elle est présente).

Un quatrième front apparaît uniquement si la cible est présente : il démarre après le contact entre le liquide et le plasma au niveau de la surface de la cible et remonte le canal de gaz rare à l'intérieur de la source. Ce front pourrait correspondre à ce qui appelé

un « rebond de l'onde d'ionisation » suite au contact entre le plasma et la cible liquide. L'onde de rebond fait l'objet d'investigation par plusieurs groupes [121], [179], [180] et dépend fortement de la nature de la cible. En effet, plus la conductivité de la cible est élevée, plus l'intensité de l'onde de rebond est renforcée. Ce phénomène trouve son origine dans l'inadéquation de l'impédance aux extrémités du plasma, à savoir entre l'électrode haute tension et la cible liquide. Dans le cas d'une cible diélectrique (comme du verre), le rebond n'apparaît pas car la conductivité du verre est faible. Dans le cas de l'eau ultra-pure, qui constitue dans cette thèse la cible pour la grosse partie des traitements, la conductivité est de  $10^{-5} \text{ S.m}^{-1}$ . A titre de comparaison, la conductivité du cuivre est de  $10^7 \text{ S.m}^{-1}$  [181] et celle du verre est comprise entre  $10^{-15}$  et  $10^{-10} \text{ S.m}^{-1}$  [181]. Dans le cas du cuivre, le plasma est concentré uniquement le long de son axe, témoignant de l'apparition d'un ou de plusieurs rebonds ayant pour origine le renforcement du champ électrique axial [116], [121], [179]. Le verre provoque un étalement du plasma à cause de l'apparition d'un champ électrique radial qui propulse le plasma le long du diélectrique [116], [179], [180], aucune onde de rebond n'est alors observable. Dans notre cas, l'eau ultra-pure ne se comporte ni comme un bon conducteur, ni comme un bon diélectrique, nous nous attendons donc à un statut mixte entre ces deux états, d'où le rebond de faible intensité observé avec la caméra iCCD.

Un zoom temporel mettant en évidence cette onde de rebond est représenté sur la Figure 60.



*Figure 60 : Zoom temporel sur le rebond de l'onde d'ionisation observé avec la caméra iCCD avec une cible liquide à 6 mm du bord de la sortie de la source (temps d'intégration d'une image = 5 ns, aucun filtre interférentiel, front montant).*

La propagation de l'onde de rebond est suffisamment bien découpée temporellement pour pouvoir mesurer sa vitesse : environ  $6.25 \text{ km.s}^{-1}$ . Or, la vitesse de propagation du jet de plasma dans l'air est d'environ  $10^3 \text{ km.s}^{-1}$ . Il y a donc un écart de trois ordres de grandeur entre ces deux vitesses, où la vitesse du rebond est la plus faible des deux. Dans la littérature, une dynamique inverse est observée : c'est le rebond qui a la vitesse de propagation la plus élevée [121]. Dans cet article, la préionisation du canal de gaz par le premier front d'ionisation est invoquée, permettant de favoriser la propagation du rebond

donc d'augmenter sa vitesse. Plusieurs allers et retours sont ainsi visibles entre l'électrode haute tension et la cible métallique ayant comme support le canal de gaz rare. Le remplacement de la cible en cuivre par de l'eau ultra pure, ayant pour effet de diminuer la conductivité de la cible, pourrait dans notre cas expliquer l'inversion des valeurs de ces vitesses. En effet, l'onde de rebond peut se propager plus difficilement à cause du plus faible champ électrique axial, par rapport au cas où la cible est un bon conducteur [179].

L'ajout de filtres interférentiels entre l'objectif et la caméra permet d'observer des émissions totales ou spécifiques ( $N_2(C-B)(0-2)$ ,  $N_2^+(B-X)(0-0)$ ,  $He(^3P_0-^3S)$  et  $O(^5S_0-^5P)$ ), telles que représentées sur la Figure 61 au temps  $t = 175$  ns. Dans le cas des filtres, le nombre d'accumulation est 10 fois plus élevé que dans le cas sans filtre.

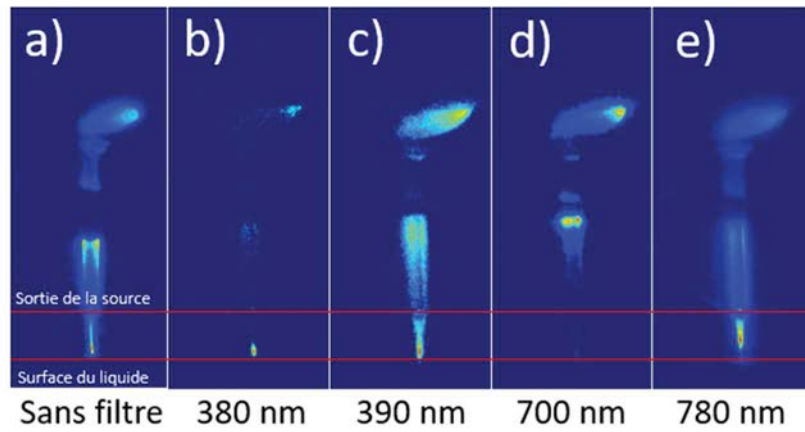


Figure 61 : Rebond de l'onde d'ionisation observé avec la caméra iCCD à 175 ns avec une cible liquide à 6 mm du bord de la sortie de la source : a) sans filtre et avec filtres ( $N_2(C-B)(0-2)$  (b),  $N_2^+(B-X)(0-0)$  (c),  $He(^3P_0-^3S)$  (d) et  $O(^5S_0-^5P)$  (e)) (temps d'intégration d'une image = 5 ns, front montant).

Le rebond est observé quel que soit le filtre utilisé. Cependant, le maximum d'émission diffère : avec les filtres 380, 390 et 780 nm il se situe dans la plume plasma, alors qu'il est maximum au niveau de l'onde de rebond dans la source avec le filtre 700 nm. L'hélium est en effet plus concentré dans la source plutôt qu'à l'extérieur car il représente 99.8 % du gaz plasmagène.

Ces exemples permettent de mettre en évidence les différents comportements que le plasma adopte selon s'il y a interaction avec une cible ou non. En conséquence, le plasma doit être étudié dans les conditions se rapprochant le plus possible de l'application visée. Dans toute cette étude, le plasma sera étudié en interaction avec une cible liquide.

Ce chapitre est consacré à la compréhension de l'influence de plusieurs paramètres sur la génération du plasma en interaction avec un liquide, et sur les mécanismes à l'origine de

la formation d'espèces excitées en phase gazeuse. Plusieurs problématiques sont ainsi mises en avant :

- quel est le comportement de la densité des atomes d'hélium métastable en fonction de la géométrie de la source plasma, du débit de gaz et du diamètre du tube de sortie de la source ?
- quel est le comportement de leur durée de vie en fonction de ces mêmes paramètres ?
- quelles sont les contributions des fronts montant et descendant dans la production de ces espèces ?
- comment le changement du gaz plasmagène peut influencer la densité et la durée de vie de ces atomes ?
- quelles sont les évolutions spatiales et temporelles des espèces excitées de l'air et du gaz plasmagène en fonction de la géométrie de la source ?

## 2. Caractérisation de la phase plasma

### 2.1. Spectroscopie d'absorption laser : mesure de la densité et de la durée de vie des atomes d'hélium métastable dans le jet de plasma

Les atomes d'hélium métastable (notés  $\text{He}^M$ ) participent activement aux échanges d'énergie entre les espèces générées au sein du plasma et l'air ambiant. L'étude de leurs évolutions temporelle et spatiale pourrait permettre de mieux comprendre les mécanismes de ces transferts d'énergie entre le plasma, l'air ambiant, et la cible en contact avec le jet de plasma. Les jets de plasma générés dans les sources asymétrique et symétrique ont été caractérisés avec un pas de 1 mm selon l'axe Z (où  $Z = 0$  mm correspond au bord de la sortie du tube et  $Z = 5$  mm correspond à la position à 1 mm au-dessus de la surface du liquide), et avec un pas de 100  $\mu\text{m}$  selon l'axe Y (sur la largeur du jet de plasma, où  $Y = 0$  mm correspond au centre du plasma).

#### 2.1.1. Evolution temporelle de la tension mesurée par le détecteur InGaAs

Un exemple d'évolution temporelle de la tension mesurée par le détecteur InGaAs est représenté sur la Figure 62 dans le cas où la source asymétrique est utilisée, avec le laser traversant le plasma en Y et  $Z = 0$  mm.

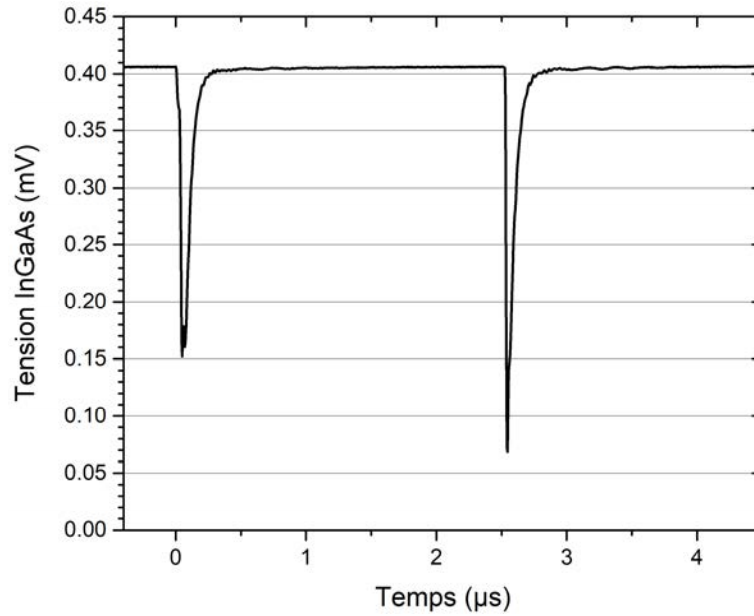


Figure 62 : Evolution temporelle de la tension mesurée par le détecteur InGaAs lors du passage du laser dans le jet plasma en  $Y$  et  $Z = 0$  mm (source asymétrique).

La production d' $\text{He}^M$  s'étend sur une centaine de nanosecondes à partir du commencement de chacun des fronts ( $0 \mu\text{s}$  pour le front montant et  $2.5 \mu\text{s}$  pour le front descendant). La tension minimale, correspondant à la plus faible intensité transmise donc à la plus forte absorption, est ensuite atteinte. En conséquence, deux pics de production sont présents : l'un suivant le front montant et l'autre le front descendant. S'ensuit alors une destruction des  $\text{He}^M$  par collisions binaires avec des électrons, des atomes d'hélium ou encore des molécules de l'air. La décroissance des  $\text{He}^M$  qui en résulte est de type exponentiel caractérisée par une constante de temps qui représente leur durée de vie. L'étude porte sur les maxima de densité atteints juste après les deux fronts, ainsi que sur les décroissances exponentielles qui suivent. L'inversion d'Abel est ensuite effectuée afin d'obtenir les profils de densité et de décroissance en fonction du rayon de la décharge.

## 2.1.2. Evolutions spatiales des densités d' $\text{He}^M$ maximales (après chacun des fronts)

### 2.1.2.1. Influence de la géométrie de la source

L'inversion d'Abel a été réalisée sur les profils d'absorption afin de transformer le repère cartésien en repère cylindrique (l'axe  $Y$  devient l'axe  $R$ ). La Figure 63 représente l'influence de la géométrie de la source sur l'évolution radiale du maximum (pic de production) de la densité d' $\text{He}^M$  pour plusieurs positions en  $R$  et en  $Z$  ainsi que pour chaque front de l'impulsion haute tension. Les positions  $Z$  ont été séparées en plusieurs groupes pour apporter plus de lisibilité aux graphiques.



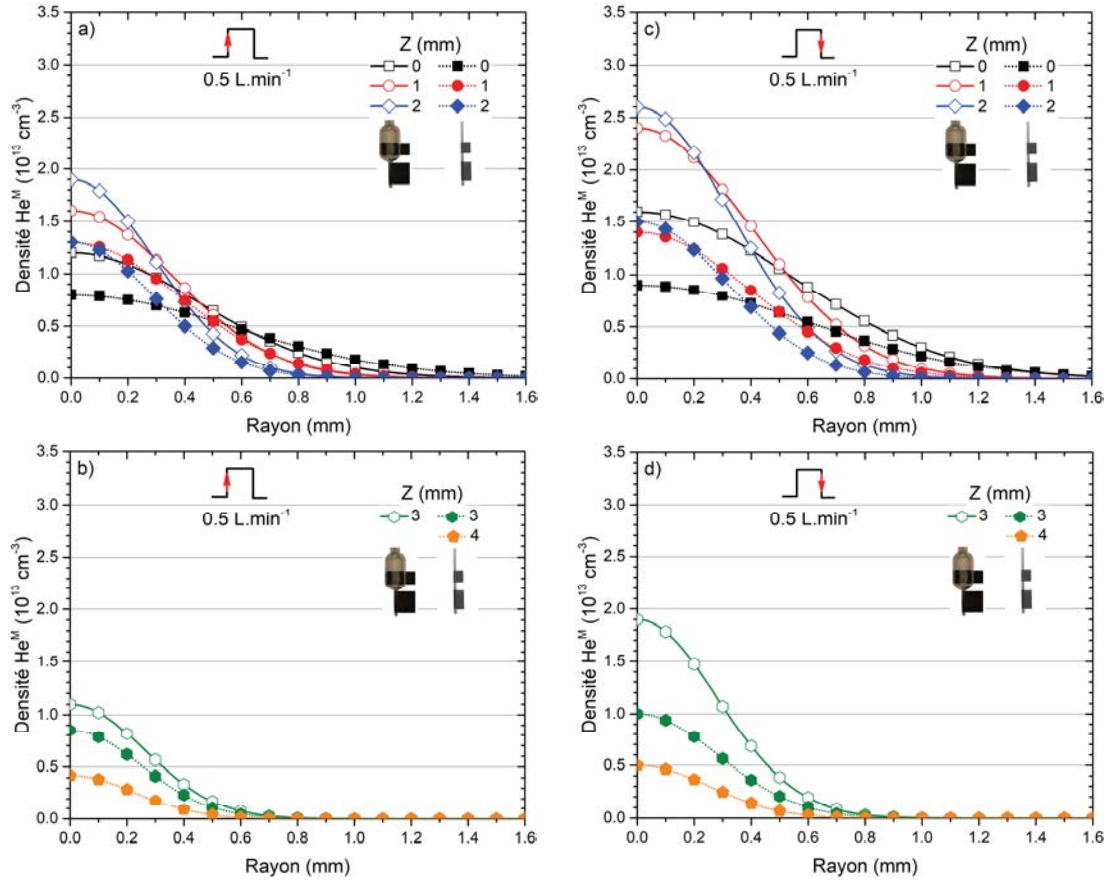


Figure 63 : Evolutions radiales de la densité d' $\text{He}^M$  du jet de plasma issu de la source asymétrique ou symétrique, à un débit de  $0.5 \text{ L.min}^{-1}$ , pour le front montant : a)  $Z = 0, 1$  et  $2 \text{ mm}$  et b)  $Z = 3$  et  $4 \text{ mm}$ , et pour le front descendant : c)  $Z = 0, 1$  et  $2 \text{ mm}$  et d)  $Z = 3$  et  $4 \text{ mm}$ .

Dans le cas d'un tel débit ( $0.5 \text{ L.min}^{-1}$ ), la quantité d' $\text{He}^M$  dans le jet est parfois trop petite pour absorber le laser, c'est pourquoi les courbes en  $Z = 4 \text{ mm}$  pour la source asymétrique, ainsi que pour  $Z = 5 \text{ mm}$  pour les deux sources, ne sont pas représentées.

La quantité d' $\text{He}^M$  dépend principalement de la quantité d'énergie disponible, donc principalement du nombre d'électrons possédant une énergie assez élevée pour créer des  $\text{He}^M$  à partir des atomes d'hélium. Comme l'ont démontrées les mesures énergétiques, l'énergie déposée dans le plasma issu de la source asymétrique lors du front montant est de  $0.52 \text{ mJ}$  et de  $0.57 \text{ mJ}$  lors du front descendant (puissance totale de  $21.8 \text{ W}$ ). Dans la source asymétrique, l'énergie déposée lors du front montant est de  $0.44 \text{ mJ}$  et de  $0.52 \text{ mJ}$  lors du front descendant (puissance totale de  $19.2 \text{ W}$ ). Ainsi, l'énergie déposée dans le plasma de la source asymétrique est toujours la plus élevée, ce qui pourrait renforcer la production des  $\text{He}^M$  avec cette source. D'autre part, la présence du réservoir au niveau de la source asymétrique permet de générer des mécanismes réactionnels différents par rapport à l'autre source. Un calcul approximatif peut être effectué afin de souligner l'importance de la présence du réservoir sur la génération du plasma et de ces espèces en

phase gazeuse. Pour un débit injecté de  $0.5 \text{ L.min}^{-1}$ , la vitesse du gaz dans le réservoir de la source asymétrique est d'environ  $0.2 \text{ cm.s}^{-1}$  alors qu'elle est de  $66 \text{ cm.s}^{-1}$  dans l'autre source. Or, une impulsion est générée toutes les  $50 \mu\text{s}$  ( $20 \text{ kHz}$ ). Cela signifie que sur une distance de  $3.5 \text{ cm}$  (correspondant à la hauteur approximative du plasma au niveau du réservoir de la source asymétrique), une même portion de gaz subira environ  $35000$  impulsions avant qu'elle ne sorte du réservoir. En ce qui concerne la source symétrique, la hauteur du plasma à partir du bas de l'électrode de masse jusqu'à son extinction en haut de la source, est de  $6 \text{ cm}$  : une même portion de gaz subira ainsi  $200$  impulsions avant de sortir des limites de l'électrode de masse. Cette différence relativement conséquente entre le nombre d'impulsion que subira le gaz au niveau de l'électrode de masse entre les deux sources, indique que le gaz dans la source asymétrique est le siège de mécanisme réactionnel différent par rapport à la source symétrique. En conséquence, nous nous attendons à observer un plus grand nombre d' $\text{He}^{\text{M}}$  dans le jet de plasma généré dans la source asymétrique. D'après la Figure 63 c'est effectivement le cas quelle que soit la position en  $Z$  ou le rayon  $R$  considérée, peu importe le front. Dans quelques rares cas, et notamment pour les  $R$  supérieurs à  $0.6 \text{ mm}$ , les deux densités ont des valeurs quasiment identiques jusqu'à la fin du rayon.

La quantité d' $\text{He}^{\text{M}}$  diminue avec l'augmentation du rayon de la décharge. Cette diminution s'explique par la forme du champ électrique qui est maximal au centre et diminue en intensité au fur et à mesure que l'on s'approche des bords. En général une structure différente est observée lorsque le gaz utilisé est de l'hélium pur : un anneau signalant la présence d'un champ électrique de la même forme [111], [182]. Ici, cet anneau n'est pas observé à faible débit ( $0.5 \text{ L.min}^{-1}$ ) à cause de l'ajout de dioxygène en grande quantité ( $0.2 \%$ ) dans le gaz plasmagène.

Le front descendant permet de produire la plus grande densité parmi les deux fronts pour une position donnée. Une hypothèse capable d'expliquer ces observations repose sur la préionisation du canal de gaz rare. En effet, le temps séparant deux impulsions ( $50 \mu\text{s}$ ) est plus grand que le temps séparant les deux fronts d'une même impulsion ( $2.5 \mu\text{s}$ ). Or, la réduction de l'écart temporelle entre deux fronts consécutifs de deux impulsions différentes (en augmentant la fréquence des impulsions par exemple) permet d'obtenir une plus grande quantité d' $\text{He}^{\text{M}}$  [111]. Ainsi la quantité d' $\text{He}^{\text{M}}$  créée lors du front montant dépend principalement de la distance temporelle par rapport au front descendant de l'impulsion précédente (ici  $47.5 \mu\text{s}$  plus tôt). De la même manière, la quantité d' $\text{He}^{\text{M}}$  générée lors du front descendant dépend principalement du front qui le précède (soit  $2.5 \mu\text{s}$  plus tôt). Une vérification est cependant à effectuer au niveau de la forme de l'absorption que l'on observe sur chaque front. En effet, si la durée de vie des  $\text{He}^{\text{M}}$  est plus grande que la durée de l'impulsion ( $2.5 \mu\text{s}$ ) alors la densité d' $\text{He}^{\text{M}}$  formée lors du

front descendant pourrait être biaisée par les  $\text{He}^{\text{M}}$  encore présents après le premier front. La Figure 62 permet d'éclaircir ce point pour une condition optimale en termes de durée de vie de ces états :  $Z$  et  $R = 0$  mm et source asymétrique. Or, comme nous allons le voir par la suite, les temps de décroissance des  $\text{He}^{\text{M}}$  liés au front montant sont bien inférieurs à la durée de l'impulsion : de l'ordre de 50 ns. Nous pouvons donc valider la remarque précédente : le front descendant est à l'origine d'une plus grande création d' $\text{He}^{\text{M}}$  grâce à la préionisation du canal de gaz rare effectuée lors du front montant.

Le maximum de la densité d' $\text{He}^{\text{M}}$  ne se situe pas au bord de la source ( $Z = 0$  mm) comme on pourrait intuitivement le penser. Il se situe en  $Z = 2$  mm pour chacun des fronts, en particulier pour la source asymétrique. Il a été montré par des mesures de diffusion Thomson [183] et par des travaux de modélisation [184], que la zone où la densité électronique est maximale n'est pas à la sortie de la source mais plutôt plusieurs centimètres après, soit à mi-distance entre le bord de la source et la fin du jet de plasma. Dans notre cas, le liquide est à seulement 6 mm, ce qui pourrait modifier l'emplacement de ce maximum autour de 2 ou 3 mm (ce qui correspond à la distance centrale entre le bord de la source et la surface du liquide).

#### 2.1.2.2. Influence du débit

L'influence du débit a été étudiée ( $0.5$  et  $2 \text{ L.min}^{-1}$ ) afin de visualiser le comportement des métastables notamment aux abords de la cible liquide, comme le plasma contient suffisamment peu d' $\text{He}^{\text{M}}$  à faible débit à cet endroit comme la limite de détection de la méthode est atteinte. La Figure 64 permet de comparer la densité d' $\text{He}^{\text{M}}$  issue du plasma généré par la source asymétrique pour des débits de  $0.5$  et  $2 \text{ L.min}^{-1}$ .

Les profils révélant les densités d' $\text{He}^{\text{M}}$  pour des positions  $Z$  comprises entre 0 et 2 mm témoignent d'une structure annulaire au centre du plasma pour le plus grand débit. Pourtant le gaz utilisé n'est pas pur en hélium, il contient 0.2% d' $\text{O}_2$ , on pourrait alors s'attendre à ne pas voir d'anneau comme l'indique *Lazarou et al.* [182] lors de l'ajout de seulement 0.1% d' $\text{O}_2$  dans le jet d'hélium. La forme annulaire des jets de plasma provient du profil d'excitation qui a lui-même une forme annulaire : ce profil témoigne d'un champ électrique dont la répartition radiale est inhomogène à la sortie de la source [85]. Cette répartition particulière pourrait provenir de la répartition des électrons s'accumulant sur les parois internes de la source suite aux fronts successifs des impulsions de tension. Le champ électrique qui en résulte a donc une structure annulaire. Or, comme les  $\text{He}^{\text{M}}$  sont principalement créés par collisions électroniques, leur évolution est fortement liée à celle du champ électrique. Si le champ électrique a une forme annulaire, alors la répartition des  $\text{He}^{\text{M}}$  aura une forme annulaire également.

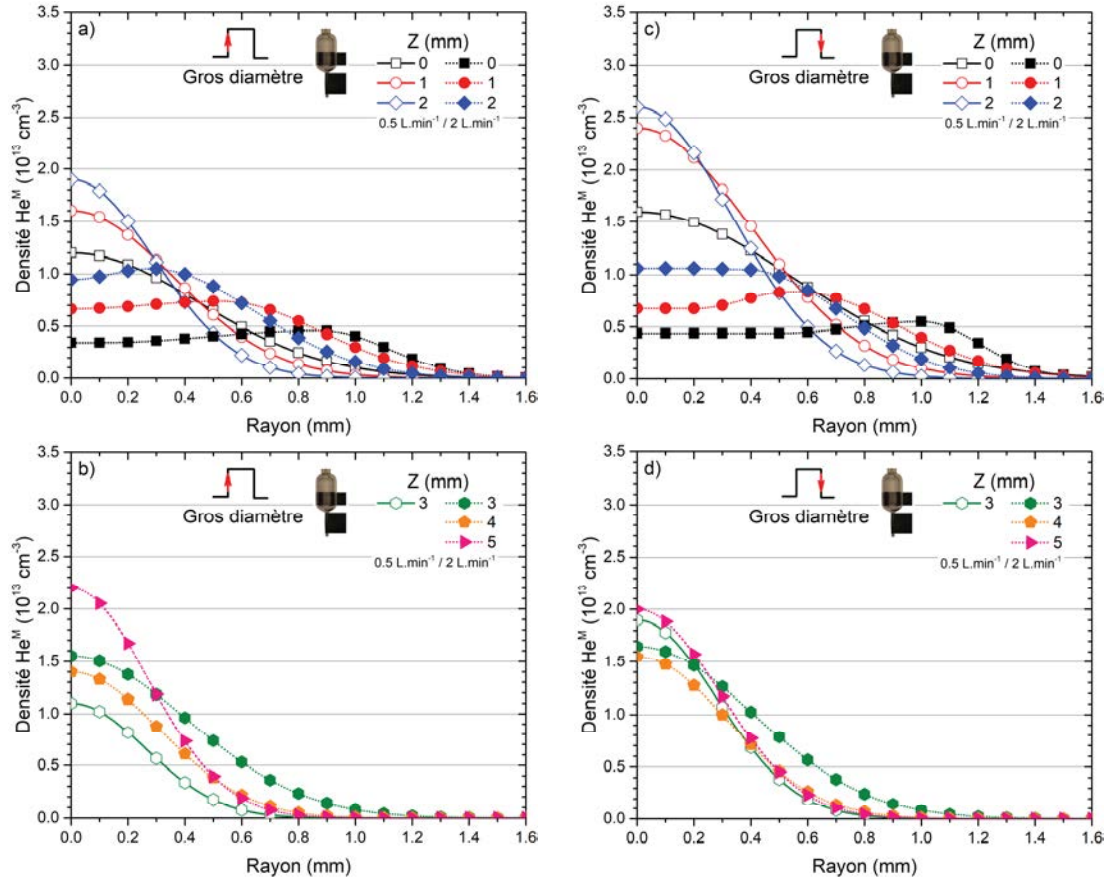


Figure 64 : Evolutions radiales de la densité d' $\text{He}^M$  du jet de plasma issu de la source asymétrique à un débit de 0.5 et de 2  $\text{L.min}^{-1}$  pour le front montant : a)  $Z = 0, 1$  et 2 mm et b)  $Z = 3, 4$  et 5 mm, et pour le front descendant : c)  $Z = 0, 1$  et 2 mm et d)  $Z = 3, 4$  et 5 mm.

Ceci a notamment été prouvé par des mesures de densité électronique réalisées par diffusion Thomson dans le jet de plasma par *Hübner et al.* [183], qui sont en très bon accord avec la forme de la densité d' $\text{He}^M$  relevée par *Douat et al.* [111] dans un jet de plasma similaire à l'étude de *Hübner et al.*. Ces deux travaux révèlent la présence d'une forme annulaire des densités électronique et d' $\text{He}^M$  à la sortie de la source plasma. Le champ électrique et la densité d' $\text{He}^M$  sont donc extrêmement liés. Nous pourrions donc observer un fait similaire dans notre cas, malgré l'ajout (volontaire) d'impureté dans le canal de gaz.

Au-delà d'une distance axiale de  $Z = 2$  mm et dans le cas du débit de 2  $\text{L.min}^{-1}$ , l'anneau observé se referme, faisant apparaître le maximum de la densité d' $\text{He}^M$  au centre du jet de plasma, soit en  $R = 0$  mm. La forme de la densité entre les deux débits devient donc similaire : elle est maximale au centre du plasma ( $R = 0$  mm). En effet, pour  $Z = 3, 4$  et 5 mm, le canal de gaz est de moins en moins pur en gaz rare au fur et à mesure que le laser se rapproche du bord du jet. Les impuretés ont tendance à se mélanger au jet spécifiquement là où le débit est le moins puissant : aux bords du plasma mais

également pour des positions axiales élevées, d'où la disparition de l'anneau pour ces positions.

L'utilisation du plus grand débit permet de mesurer les densités d' $\text{He}^M$  au niveau des positions axiales  $Z = 4$  et  $5$  mm. Ceci peut s'expliquer par le plus grand nombre d'atomes d'hélium généré par impulsion lors de l'augmentation du débit, rendant le jet de plasma plus pur en gaz rare, empêchant son mélange avec l'air (surtout au centre). De plus, la conductivité du canal de gaz rare augmente, ce qui induit l'augmentation du courant de la décharge. Ces deux facteurs réunis permettent d'expliquer les fortes densités d' $\text{He}^M$  mesurées au bout du jet de plasma, proches de la surface du liquide. Dans les travaux de *Niermann et al.* [147] un fait similaire a été relevé : l'augmentation du débit provoque une plus grande production d' $\text{He}^M$ , probablement par l'augmentation de la température électronique au dépend de l'énergie dépensée dans les excitations rotationnelles ou vibrationnelles des impuretés.

#### 2.1.2.3. Influence du diamètre du tube de sortie

L'influence du diamètre du tube de sortie de la source a été étudiée avec le plus grand débit ( $2 \text{ L.min}^{-1}$ ) afin de constater son effet sur la forme annulaire de la densité d' $\text{He}^M$ . La Figure 65 permet de comparer la densité d' $\text{He}^M$  du plasma généré par la source asymétrique dont le diamètre de sortie est de  $3.7$  mm (gros diamètre),  $3.1$  mm (moyen diamètre) et  $1.5$  mm (petit diamètre).

Le comportement de l'anneau d' $\text{He}^M$  est fortement dépendant du diamètre de sortie du tube. En effet, en plus du tube avec le plus gros diamètre, cet anneau apparaît seulement avec le tube de diamètre moyen pour  $Z = 0$  mm, plus particulièrement lors du front montant. En continuant de diminuer le diamètre de sortie de la source, le comportement de la densité est similaire au cas avec le débit de  $0.5 \text{ L.min}^{-1}$ . Le profil d'excitation guidé par le champ électrique semble donc ne pas avoir de structure annulaire lorsque l'on diminue davantage le diamètre de sortie du tube. Dans ce cas, comme les bords du tube se rapprochent entre eux, la distribution électronique tend à devenir plus homogène à la sortie de la source. Ceci a également été observé dans une configuration similaire à la nôtre, où une caméra ICCD fait face au jet de plasma (caméra positionnée axialement) afin de repérer l'influence du diamètre de la sortie du tube sur les émissions des espèces excitées [185]. Il en résulte une diminution du diamètre interne de l'anneau avec la diminution du diamètre de sortie de la source.



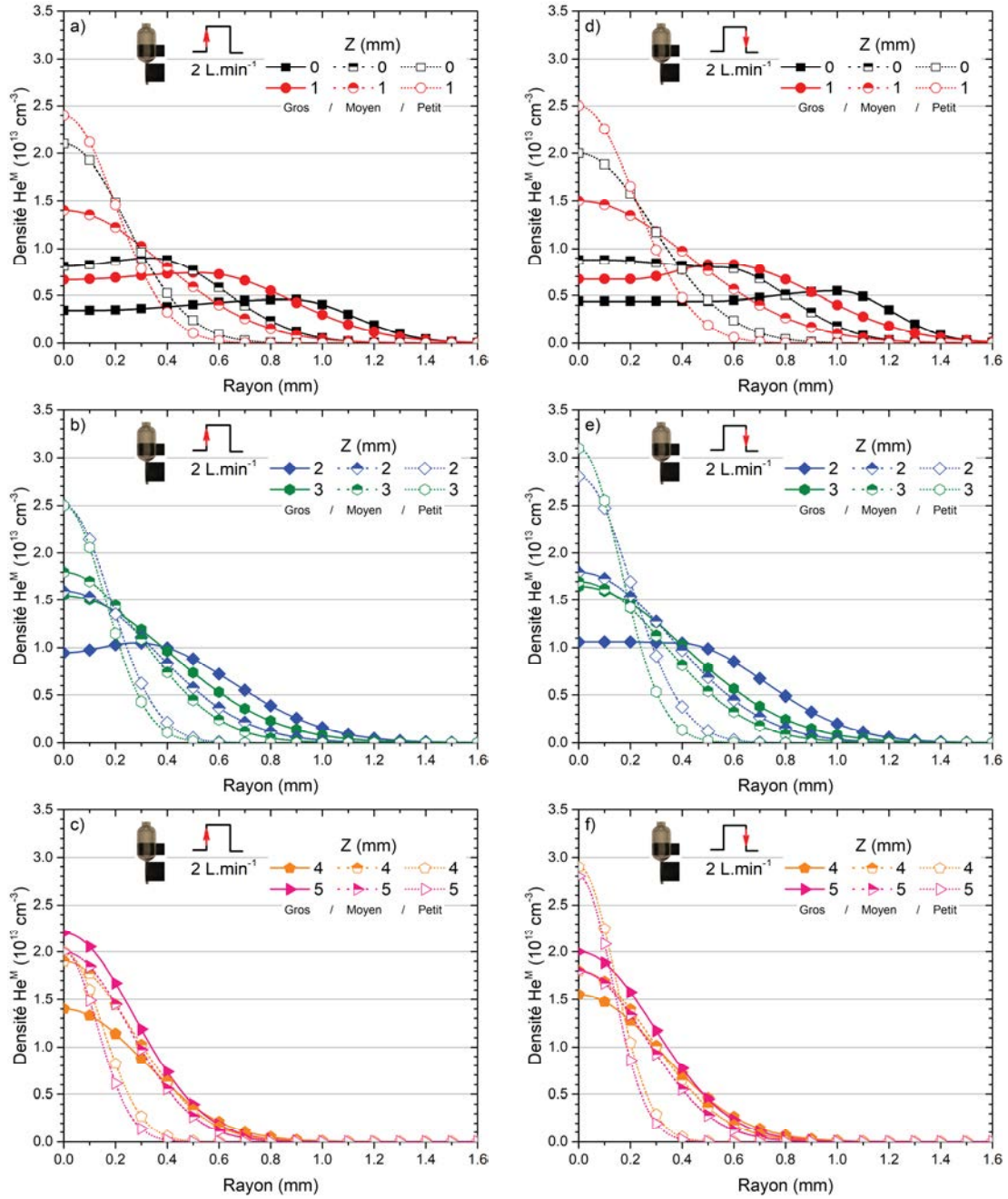


Figure 65 : Evolutions radiales de la densité d' $\text{He}^M$  du jet de plasma issu de la source asymétrique, à un débit de  $2 \text{ L.min}^{-1}$ , avec trois différents diamètres de sorties pour le front montant : a)  $Z = 0$  et  $1 \text{ mm}$ , b)  $Z = 2$  et  $3 \text{ mm}$  et c)  $Z = 4$  et  $5 \text{ mm}$ , et pour le front descendant : d)  $Z = 0$  et  $1 \text{ mm}$ , e)  $Z = 2$  et  $3 \text{ mm}$  et f)  $Z = 4$  et  $5 \text{ mm}$ .

L'utilisation de la source avec le diamètre de sortie le plus petit permet de maximiser la densité d' $\text{He}^M$  pour  $R = 0 \text{ mm}$ . Pour des rayons plus grands, cette densité diminue très rapidement en comparaison avec les deux autres sources. Le rapprochement des parois du tube de sortie permet de concentrer la quantité d'électron disponible au centre du jet de plasma ( $R = 0 \text{ mm}$ ). Les travaux de Bæuf *et al.* [186] ont montré que l'intensité du champ électrique ainsi que la densité des électrons devenaient plus élevées avec des petits

diamètres de sortie, ce qui est en concordance avec nos observations. De plus, comme le débit est constamment égal à  $2 \text{ L.min}^{-1}$ , la diminution du diamètre de sortie du tube permet d'augmenter la vitesse de propagation du gaz hors de la source. Donc pour une même durée et fréquence d'impulsion, le canal de gaz est plus rapidement renouvelé en  $\text{He/O}_2$ , donc après une impulsion, les impuretés (ou les produits de dissociations des impuretés) sont plus rapidement chassées d'une impulsion à l'autre. Comme l'énergie du plasma est moins récupérée par les impuretés, l'excitation des atomes d'hélium en  $\text{He}^M$  est donc plus probable, d'où l'augmentation de la production de la densité d' $\text{He}^M$  au centre dans ces conditions.

### 2.1.3. Evolution spatiale de la durée de vie des $\text{He}^M$

La durée de vie des  $\text{He}^M$  est un marqueur de la quantité d'impureté présent dans le jet de plasma. Moins il y a d'impuretés présentes dans le jet de plasma capables de détruire les  $\text{He}^M$ , plus la durée de vie de ces derniers est élevée. Lorsque le gaz utilisé est de l'hélium pur, leur durée de vie peut atteindre plusieurs microsecondes là où le plasma est le plus pur en hélium, à savoir en son centre [111]. Dans notre étude, l'ajout de dioxygène dans la décharge va drastiquement faire chuter ces durées de vie dans le jet.

#### 2.1.3.1. Influence de la géométrie de la source

La Figure 66 permet de comparer la différence de la durée de vie des  $\text{He}^M$  en fonction de la position dans la décharge et de la source plasma utilisée.

La valeur moyenne de la durée de vie des  $\text{He}^M$  se situe autour de 45 ns, soit une réduction d'un facteur 100 par rapport à ce qui est attendu avec de l'hélium pur. Certains temps n'apparaissent pas, en particulier pour les cas  $Z = 3$  et  $4 \text{ mm}$  après  $R = 0.6 \text{ mm}$ , car la décroissance ne peut pas être ajustée correctement à cause du bruit affectant le signal. Un faible écart est observé entre les durées de vie mesurées avec les deux sources, 10 ns au maximum. Le plasma issu de la source symétrique fournit les  $\text{He}^M$  avec les plus hautes durées de vie.

La tendance générale de la durée de vie des  $\text{He}^M$  peut se découper en deux parties : la première correspondant à un plateau, ou à une faible augmentation, de leur durée de vie au centre, jusqu'à une seconde partie où elle chute. Ceci peut s'expliquer par le changement de l'environnement du gaz selon la position radiale (et axiale) étudiée. En se rapprochant du bord du plasma, la proportion  $\text{O}_2/\text{He}^M$  et  $\text{N}_2/\text{He}^M$  augmente car l'air pénètre plus facilement là où le débit est faible, ce qui explique la diminution de la durée de vie des  $\text{He}^M$  après quelques centaines de micromètres.

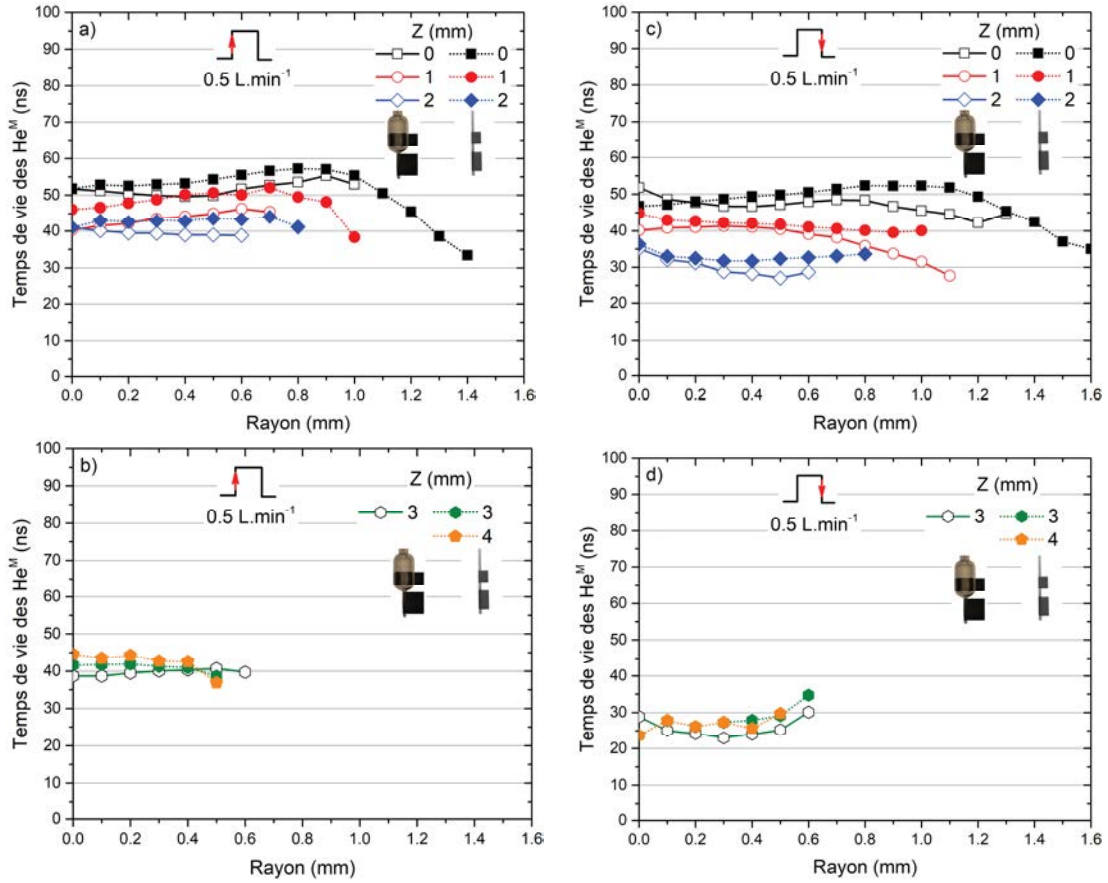
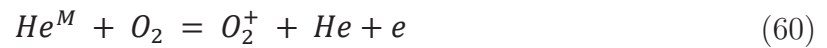


Figure 66 : Evolutions radiales du temps de vie des  $He^M$  du jet de plasma issu de la source asymétrique ou symétrique, à un débit de  $0.5 \text{ L.min}^{-1}$ , pour le front montant : a)  $Z = 0, 1$  et  $2 \text{ mm}$  et b)  $Z = 3$  et  $4 \text{ mm}$ , et pour le front descendant : c)  $Z = 0, 1$  et  $2 \text{ mm}$  et d)  $Z = 3$  et  $4 \text{ mm}$ .

Ce schéma n'est cependant pas toujours suivi. En effet, si ce n'est pas le cas (par exemple pour  $Z = 3$  et  $4 \text{ mm}$  lors du front descendant), cela signifie que les temps de décroissance sont très faibles donc sont mesurés avec plus d'imprécisions que les autres points. Ces imprécisions peuvent provenir d'un ajustement mathématique des courbes plus difficile, notamment à cause du bruit présent sur les signaux qui diminuent leur qualité.

La durée de vie des  $He^M$  peut être calculée de manière théorique à condition de connaître la composition du mélange gazeux au point de la décharge considéré. La réaction de désactivation principale des  $He^M$  est susceptible d'être celle faisant intervenir  $O_2$ , comme la bouteille de gaz en contient  $0.2 \%$  ( $2000 \text{ ppm}$ ). A la sortie du tube de la source et au centre du plasma ( $Z$  et  $R = 0 \text{ mm}$ ), la réaction suivante est celle qui a le plus de poids et donc le plus de chance d'expliquer la disparition des  $He^M$  :



La constante de réaction  $k_0$  associée à cette réaction à  $440 \text{ K}$  est [112] :



$$k_0 = 2.54 \cdot 10^{-10} \left( \frac{T_{gaz}}{300} \right)^{0.5} \approx 3.07 \cdot 10^{-10} \text{ cm}^3 \cdot \text{s}^{-1} \quad (61)$$

La densité d'O<sub>2</sub> peut être calculée de la manière suivante :

$$n_{O_2} = N_L \cdot N_{O_2} \cdot \frac{300}{T_{gaz}} = 2.54 \cdot 10^{19} \cdot 2 \cdot 10^{-3} \cdot \frac{300}{440} \approx 3.34 \cdot 10^{16} \text{ cm}^{-3} \quad (62)$$

Avec  $N_L$  le nombre de Loschmidt et  $N_{O_2}$  le nombre de molécule de dioxygène.

La fréquence de collision entre O<sub>2</sub> et He<sup>M</sup> est calculée de cette manière :

$$\nu_{He^M} = k_0 \cdot n_{O_2} = 3.07 \cdot 10^{-10} \cdot 3.34 \cdot 10^{16} = 1.02 \cdot 10^7 \text{ s}^{-1} \quad (63)$$

Ainsi, la durée de vie théorique au centre du jet de plasma des He<sup>M</sup> est donc :

$$t_{He^M} = \frac{1}{\nu_{He^M}} \approx 98 \text{ ns} \quad (64)$$

Cette valeur est presque deux fois plus grande que la valeur moyenne (45 ns) évoquée précédemment. Cela signifie que d'autres mécanismes de désactivation ont lieu, en plus de la réaction entre He<sup>M</sup> et O<sub>2</sub> citée plus haut. Un tel débit (0.5 L.min<sup>-1</sup>) peut être le siège d'une forte diffusion de l'air dans le plasma. Nous pourrions donc imaginer qu'une petite quantité d'O<sub>2</sub> et de N<sub>2</sub> provenant de l'air puisse rentrer jusqu'au centre du plasma, de manière à abaisser les temps de décroissance des He<sup>M</sup>.

Rappelons que la quantité d'O<sub>2</sub> calculée dans (62) peut varier selon la température du gaz. Il est donc tout à fait possible que cette température varie de plusieurs dizaines de kelvin selon la tranche de plasma visée, sa position et le moment temporel choisi. Dans notre cas, la température du gaz mesurée en Y et Z = 0 mm est de 440 K, et représente le maximum de température que l'on peut trouver dans le jet de plasma. Nous pourrions donc imaginer que la température diminue au fur à mesure que l'on s'éloigne du centre et du bord du jet de plasma. Aux abords de la surface du liquide, il serait plus raisonnable de considérer une température de 340 K par exemple. Cette température est choisie de manière à approcher la température du liquide après 20 minutes de traitement par plasma qui est de 40 °C environ, comme nous le montrerons par la suite. De même, au bord du jet de plasma donc au niveau de l'interface entre le gaz et l'air ambiant, la température du gaz avoisine la température ambiante soit environ 300 K. Ainsi, la durée de vie des He<sup>M</sup> dans ces nouvelles conditions serait de 85 ns environ (300 K), au lieu de 98 ns (440 K). La diminution de la température du gaz avec l'augmentation de Z et de R peut donc expliquer la légère chute de la durée de vie des He<sup>M</sup> à partir de R et Z = 0 mm.

### 2.1.3.2. Influence du débit

L'impact des impuretés peut être réduit en augmentant le débit du gaz. C'est l'objet de la Figure 67.

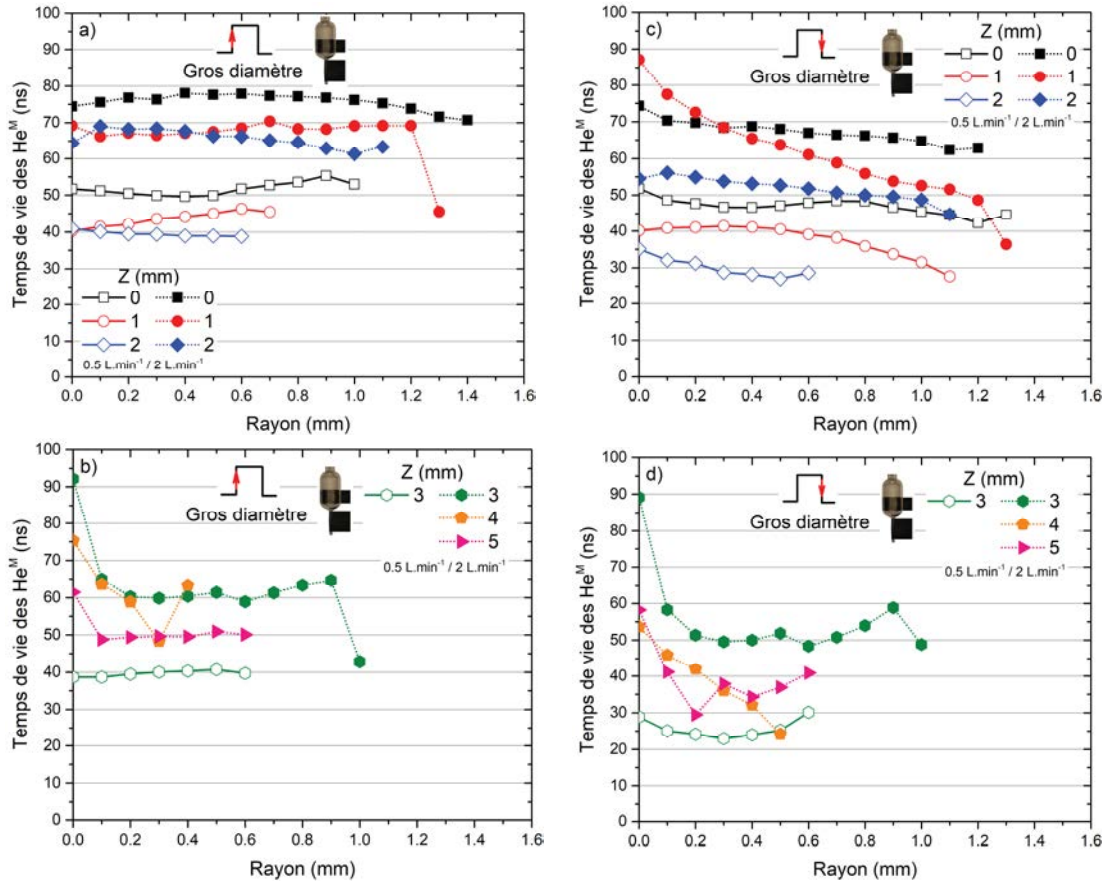


Figure 67 : Evolutions radiales du temps de vie des  $\text{He}^M$  du jet de plasma issu de la source asymétrique, à un débit de 0.5 et de 2  $\text{L.min}^{-1}$ , pour le front montant :  
 a)  $Z = 0, 1$  et 2 mm et b)  $Z = 3, 4$  et 5 mm, et pour le front descendant :  
 c)  $Z = 0, 1$  et 2 mm et d)  $Z = 3, 4$  et 5 mm.

L'augmentation du débit induit une composition plus pure en hélium au moins au centre du jet de plasma. Cela signifie que dans ce cas de figure, nous nous affranchissons de la plus grosse partie de la diffusion de l'air jusqu'au centre du plasma. A priori le cœur du plasma contient 99.8 % d'hélium et 0.2 % de dioxygène et quelques traces d'impuretés issues de la bouteille telle que de la vapeur d'eau. Ici nous obtenons des temps de décroissance proche de 90 ns pour  $R = 0$  mm, ce qui est en très bon accord avec la valeur théorique calculée précédemment à 440 K (98 ns). L'augmentation du débit montre une fois de plus la plus grande difficulté de pénétration des espèces de l'air dans le plasma, traduite par des temps de décroissance plus élevés par rapport à un faible débit.

#### 2.1.4. Utilisation de l'hélium pur, problème à haute absorption (haute densité)

L'étude de la pureté en gaz rare a été envisagée afin de mettre en évidence l'effet fortement électronégatif d' $O_2$  dans la décharge, comme il joue le rôle de capteur d'électrons. Les durées de vie des  $He^M$  sont également fortement modifiées notamment car  $O_2$  est capable de désactiver les états métastables comme vu précédemment. Dans cette partie, seule la source asymétrique avec le plus grand diamètre est utilisée avec un débit de  $2 \text{ L.min}^{-1}$ . La position sondée correspond à  $Y$  et  $Z = 0 \text{ mm}$ . Sur la Figure 68 est représentée l'absorption du laser par le plasma dans ces conditions.

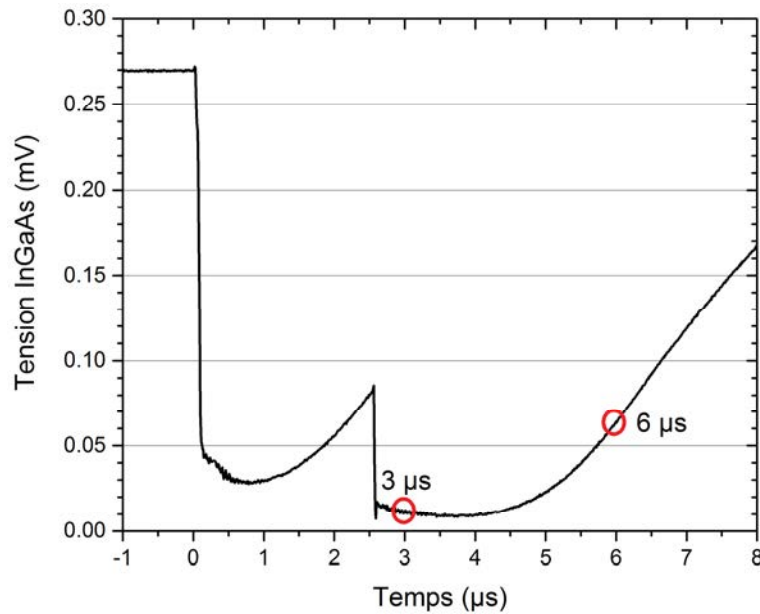


Figure 68 : Evolution temporelle de la tension mesurée par le détecteur InGaAs lors du passage du laser dans le jet plasma en  $Y$  et  $Z = 0 \text{ mm}$  (source asymétrique). Le gaz utilisé est de l'hélium pur. Les cercles indiquent deux temps caractéristiques d'une zone de saturation à  $3 \mu\text{s}$  d'une part, et d'autre part d'une zone à  $6 \mu\text{s}$  correspondant à la décroissance exponentielle.

La tension aux bornes du détecteur InGaAs est très faible pendant les fronts de l'impulsion ainsi que pendant les quelques microsecondes qui suivent, de l'ordre de 5% du signal maximum mesuré. En particulier après le front descendant, un plateau correspondant à une saturation de l'absorption apparaît durant  $2 \mu\text{s}$  environ. Cela signifie que l'absorption du milieu est très forte, donc qu'il y a un nombre conséquent d' $He^M$  le long de la ligne de visée du laser à cet endroit. Ce type de signal ne peut pas être interprété avec la même méthode utilisée pour déterminer la densité d' $He^M$  dans le jet constitué du mélange  $He/O_2$  car le profil de l'intensité transmise est initialement biaisé.

Pour s'en convaincre, la longueur d'onde du laser a été modifiée afin de scanner les trois raies d'absorption correspondant aux états métastables autour de  $1083 \text{ nm}$ , dans les mêmes conditions qu'une mesure classique (la zone d'étude est située en  $Y$  et  $Z = 0 \text{ mm}$ ).

Un ajustement de la courbe est ensuite effectué par une courbe théorique dépendant de la température du gaz, de la densité d' $\text{He}^M$  et de la longueur d'absorption du laser par le plasma. Ce profil théorique a déjà été utilisé pour déterminer la température du gaz en Y et Z = 0 mm dans le cas du mélange He/O<sub>2</sub>.

Les deux profils d'absorption associés aux deux temps entourés sur la Figure 68 sont représentés sur la Figure 69 à 3  $\mu\text{s}$  (plateau) et 6  $\mu\text{s}$  (phase exponentielle décroissante).

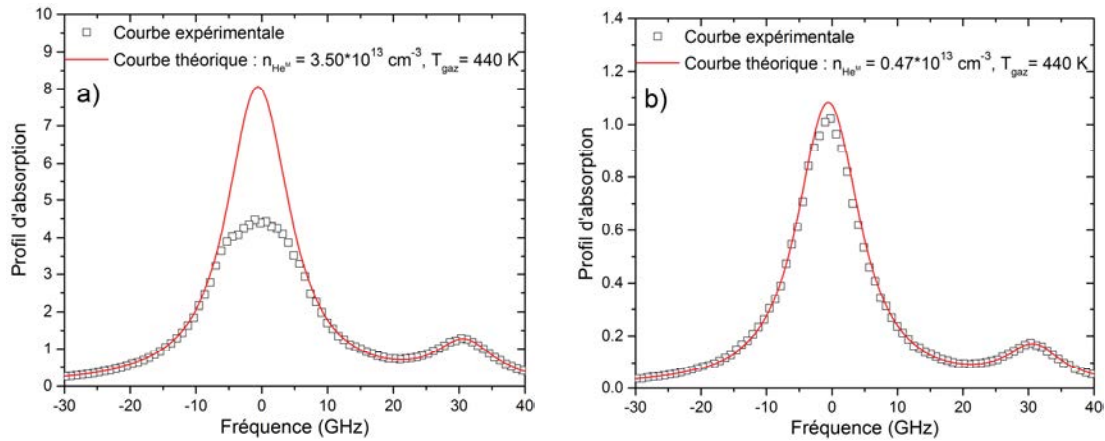


Figure 69 : Balayage fréquentiel du profil d'absorption des trois transitions  $2^3S_2 \rightarrow 2^3P_{0,1,2}$  de l'hélium (carrés noirs) pour un temps de a) 3  $\mu\text{s}$  et b) 6  $\mu\text{s}$  après le début de l'impulsion. La courbe théorique (ligne rouge) est ajustée sur la courbe expérimentale en adaptant la densité d' $\text{He}^M$  et  $T_{\text{gaz}}$ .

A 3  $\mu\text{s}$ , l'ajustement de la courbe théorique est impossible à réaliser sur les deux raies confondues  $2^3S_1 \rightarrow 2^3P_{1,2}$  obtenues expérimentalement. C'est grâce à la raie  $2^3S_1 \rightarrow 2^3P_0$  que l'ajustement par la courbe théorique est réalisable. Sa force d'oscillateur étant la plus faible des trois, cette raie est moins sensible à la quantité d' $\text{He}^M$ . Il en résulte un écart très important à 3  $\mu\text{s}$  (environ un facteur 2) entre les deux profils d'absorption au niveau des deux raies confondues  $2^3S_1 \rightarrow 2^3P_{1,2}$ . Leur intensité est en effet fortement sous-estimée par rapport à ce que donne la courbe théorique.

A l'inverse à 6  $\mu\text{s}$ , l'ajustement de la courbe théorique sur la courbe expérimentale est bien meilleur au niveau de toutes les raies. Il subsiste toujours un léger décalage au niveau des deux raies confondues pouvant être attribué aux bruits affectant les mesures.

La température du gaz dans les deux cas est de 440 K. Les réelles valeurs des densités d' $\text{He}^M$  sont donc de  $3.5 \cdot 10^{13}$  et  $0.47 \cdot 10^{13} \text{ cm}^{-3}$  pour 3 et 6  $\mu\text{s}$  respectivement. Le problème de sous-estimation des valeurs a donc bien son origine dans la trop forte absorption du laser par le plasma.

Il peut paraître étonnant de mesurer une densité de  $3 \cdot 10^{13} \text{ cm}^{-3}$  dans le cas du mélange He/O<sub>2</sub>, comme montrée sur la Figure 65 (Z et R = 0 mm, front descendant, petit

diamètre), sans pour autant engendrer une saturation comme dans l'hélium pur (observée pour une densité de  $3.5 \cdot 10^{13} \text{ cm}^{-3}$ ). L'explication repose sur la longueur de plasma absorbant le laser. Plus la longueur d'intégration est grande et contient une forte densité d' $\text{He}^M$ , plus la saturation apparaîtra rapidement. Dans le cas de la Figure 65, les fortes densités sont mesurées ponctuellement : autour de ce maximum les densités chutent rapidement et la distance d'absorption est relativement faible (1 mm environ). Ce n'est pas le cas de l'hélium pur où la densité sur la ligne de visée reste grande sur une plus grande distance (3 mm environ). Lors des mesures, il est donc nécessaire de juger de la qualité du signal d'absorption, sans quoi l'accumulation des couches d' $\text{He}^M$  de fortes densités risque de fausser les valeurs des densités d' $\text{He}^M$ .

A l'image de la Figure 69, plusieurs temps pendant et après la décharge ont fait l'objet d'un ajustement entre les courbes théorique et expérimentale. Le but est ici de comparer les densités réelles (issues des courbes théoriques) avec les densités brutes (courbe expérimentale) pour plusieurs temps donnés. La densité de la courbe expérimentale a été calculée pour une distance d'absorption de 3.15 mm. Cette comparaison est représentée sur la Figure 70.

La courbe expérimentale sous-estime les densités d' $\text{He}^M$  au moins pendant et après les fronts. Dans le cas du front montant, cette sous-estimation dure 1  $\mu\text{s}$ . Lors du front descendant, elle dure 2.5  $\mu\text{s}$  environ. En dehors de ces zones, notamment lors des décroissances exponentielles, les deux courbes affichent des densités similaires aux erreurs d'incertitude près. Lors du front descendant, les densités peuvent afficher un écart de presque trois fois leur valeur entre les deux courbes.

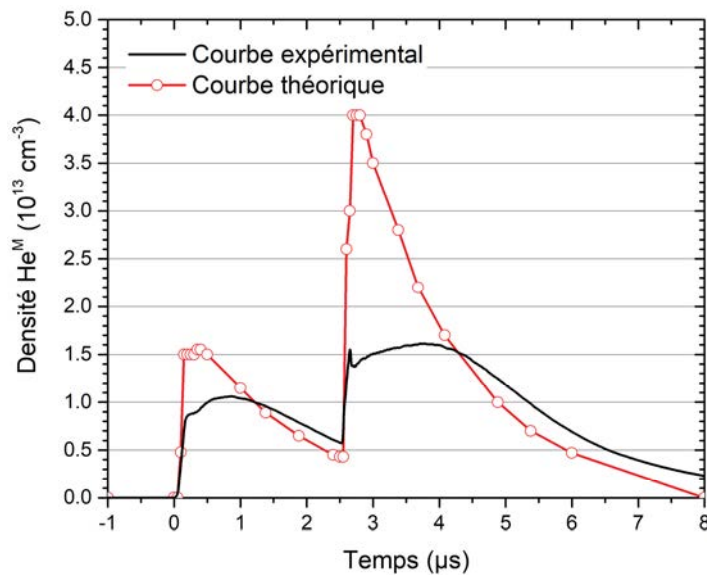


Figure 70 : Comparaison entre la densité d' $\text{He}^M$  mesurée expérimentalement (noir) et mesurée avec la courbe théorique (rouge) pour  $R$  et  $Z = 0 \text{ mm}$  lorsque de l'hélium pur est utilisé et injecté dans la source asymétrique.

Plusieurs mesures d'absorption ont été effectuées pour différentes distances entre le bord du tube de la source et la surface du liquide, en affichant le même type de résultat. La densité d' $\text{He}^M$  est donc trop grande pour être mesurée de manière « classique » par absorption laser. Pour contourner ce problème il est nécessaire de scanner les trois raies d'absorption, avec un pas suffisamment petit en longueur d'onde, pour pouvoir ajuster la courbe qui en est issue, avec un profil théorique. Ce profil renseignera ensuite la valeur de la réelle densité d' $\text{He}^M$ , à condition de se fier à la raie isolée pour procéder à un ajustement le plus précis possible. Le gros problème de cette technique est le temps nécessaire pour la réaliser. Si l'on considère un pas de 100  $\mu\text{m}$  selon Y, 1 mm selon Z et 1 GHz en fréquence, cela représente des centaines de milliers de fichiers pour scanner l'ensemble du jet de plasma, en plus de consommer une grosse quantité de gaz. L'autre solution pour contourner ce problème consiste à utiliser l'absorption à 389 nm utilisant les transitions  $2^3\text{S}_1 \rightarrow 3^3\text{P}_{1,2}$  comme l'indique la Figure 29. Les forces d'oscillateurs associées à ces deux transitions sont 0.0358 et 0.0215 respectivement [137]. En conséquence, la valeur de la somme de ces deux forces est proche de celle de la raie  $2^3\text{S}_1 \rightarrow 2^3\text{P}_0$  (0.059). Dans ce cas, la technique d'absorption laser sera moins sensible à basse absorption que les transitions classiques  $2^3\text{S}_1 \rightarrow 3^3\text{P}_{1,2}$  ( $0.17974 + 0.29958 = 0.47932$ ) [137].

### 2.1.5. Comparaison de la densité d' $\text{He}^M$ entre He pur et He + 0.2% $\text{O}_2$

A titre de comparaison, la densité d' $\text{He}^M$  générée dans le gaz pur d'hélium est comparée à celle générée dans le mélange He + 0.2%  $\text{O}_2$ . Les conditions de ces deux expériences sont les suivantes : Y et Z = 0 mm, source asymétrique de plus gros diamètre et débit de 2  $\text{L}.\text{min}^{-1}$ . Les densités sont moyennées le long de la ligne de visée du laser. Cette comparaison est représentée dans la Figure 71.

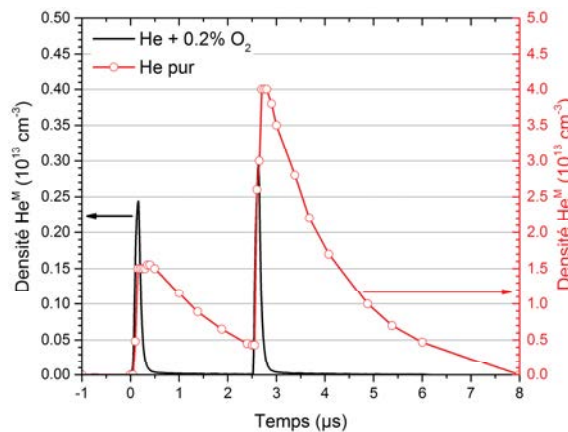


Figure 71 : Comparaison entre les densités moyennées d' $\text{He}^M$  mesurées dans un plasma d'He + 0.2%  $\text{O}_2$  (noir) et dans un plasma d'He (rouge) au cours d'une impulsion, en Y et Z = 0 mm, avec un débit de 2  $\text{L}.\text{min}^{-1}$  et dans la source asymétrique de plus gros diamètre.



La densité moyennée d' $\text{He}^M$  le long de la ligne de visée du laser est environ 10 fois plus faible lors de l'utilisation du mélange de gaz par rapport à l'hélium pur. A la fin de la production associée au front montant, la densité est de  $0.24 \cdot 10^{13} \text{ cm}^{-3}$  pour le mélange et de  $1.5 \cdot 10^{13} \text{ cm}^{-3}$  pour l'hélium pur. De manière similaire, la densité à la fin de la production associée au front descendant est de  $0.29 \cdot 10^{13} \text{ cm}^{-3}$  pour le mélange et de  $4 \cdot 10^{13} \text{ cm}^{-3}$  pour l'hélium pur. L'ajout d'une faible quantité d' $\text{O}_2$  dans le mélange gazeux provoque une diminution de l'énergie associée à la création des  $\text{He}^M$  comme le dioxygène est une molécule fortement électronégative. Cependant, l'énergie consommée par le dioxygène n'est pas perdue dans des processus réactionnels secondaires, elle sert au contraire à favoriser l'apparition de composés réactifs importants capable de se déposer en phase liquide. Même si l'hélium pur fournit la plus grande densité de métastable, il faut garder en mémoire que ce sont les espèces réactives générées par toutes les combinaisons possibles entre toutes les espèces du plasma qui sont à maximiser, pas seulement la quantité des  $\text{He}^M$ .

Dans toute la suite de ce travail, seul le mélange  $\text{He} + 0.2\% \text{ O}_2$  à un débit de  $0.5 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$  sera considéré. De même, seules les sources (asymétrique et symétrique) avec des diamètres de sortie de 3.7 mm sont conservées.

## 2.2. Spectroscopie d'émission optique et imagerie intensifiée CCD filtrée en longueur d'onde

L'étude des espèces réactives en phase gazeuse peut se réaliser par plusieurs diagnostics : absorption UV pour l'ozone [187], [188], Two-photon Absorption Laser Induced Fluorescence (TALIF) pour l'oxygène atomique [189], [190], Fourier Transform InfraRed (FTIR) pour l'ozone, le dioxyde d'azote, le peroxyde d'hydrogène, etc. [191], [192]. Chacune de ces techniques permet de quantifier la densité (relative ou absolue) d'une ou de plusieurs espèces chimiques en phase gazeuse. L'utilisation de la spectroscopie d'émission optique constitue la première étape dans le processus de compréhension des mécanismes réactionnels qui ont lieu dans un jet de plasma. S'affranchir de la sélection d'une espèce (comme pourrait le faire l'un des diagnostics cités précédemment) permet d'avoir une vue d'ensemble des espèces générées dans le jet de plasma, donc d'avoir une idée sur la chimie induite en phase liquide suite au traitement de l'eau par le plasma. Dans cette partie, l'impact de la géométrie de la source sur la quantité d'espèces excitées en phase gazeuse est étudié.

Les spectres optiques des jets de plasma issus des sources asymétrique et symétrique en Z et  $Y = 0 \text{ mm}$  sont représentés sur la Figure 72. Les principales raies d'émission sont indiquées directement sur le graphique.

Quelle que soit la source utilisée, c'est principalement l'émission de l'oxygène excitée à 777.5 nm qui est visible sur les deux spectres. Les autres émissions sont principalement liées à des états de l'hélium, du diazote et de l'oxygène. Aucune calibration en intensité n'a été effectuée, ce qui ne nous permet pas de comparer les valeurs des intensités des émissions de différentes espèces excitées entre elles.

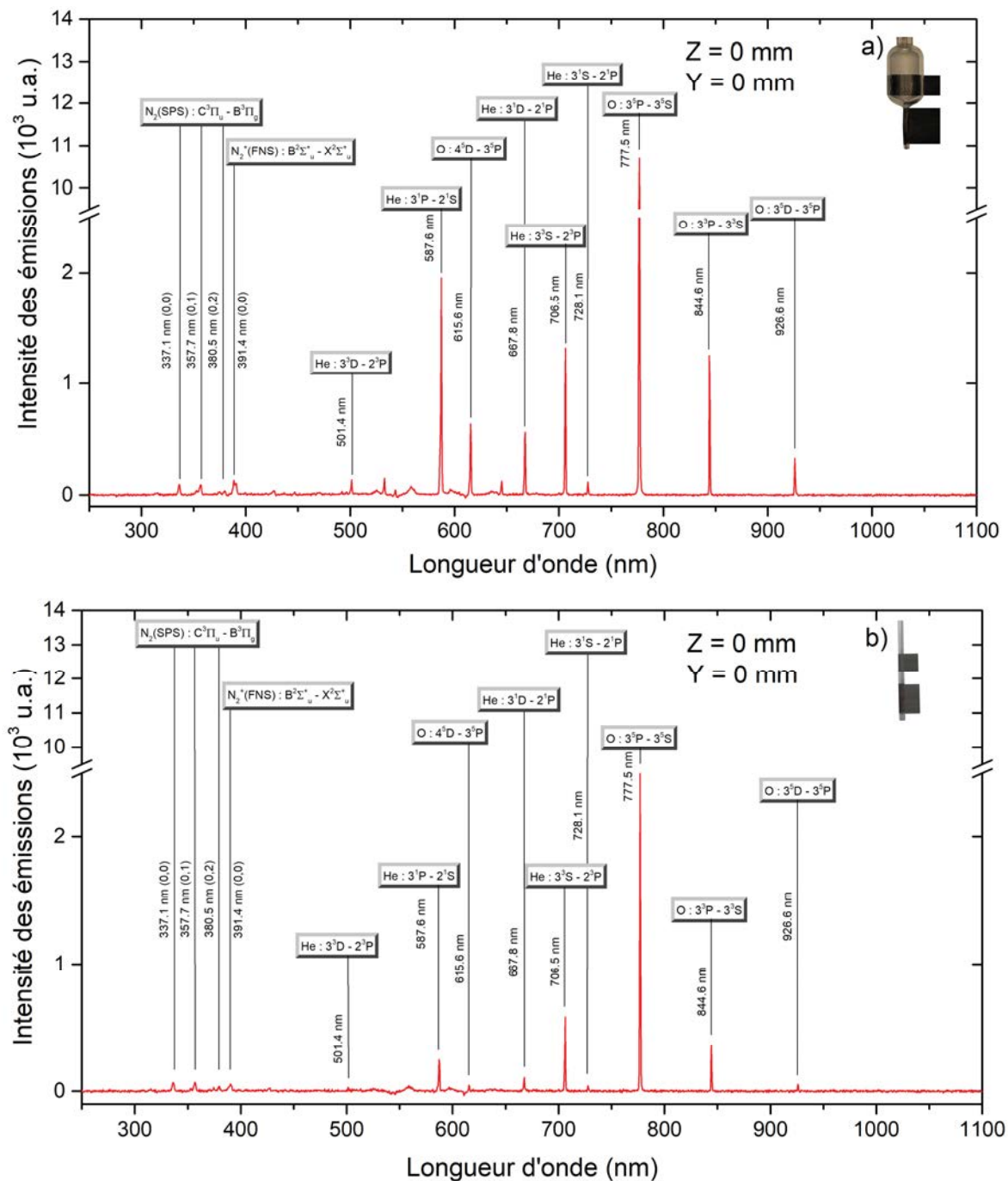


Figure 72 : Spectre optique dans l'intervalle 250-1100 nm : a) source asymétrique et b) source symétrique,  $Z = 0$  mm (sortie de la source) et  $Y = 0$  mm (centre du jet de plasma).



Les intensités des espèces émettrices relevées sont toutes moins intenses avec la source symétrique, en comparaison avec l'autre source. Afin de mettre en évidence les différences d'émissions entre ces deux sources, certaines espèces excitées apparaissant sur la Figure 72 ont été isolées pour chacune des deux sources. Les écarts entre les émissions d'une même espèce sont donnés sous la forme de rapports d'intensité asymétrique/symétrique tels que représentés sur la Figure 73. D'autre part, sur cette même figure, les rapports des émissions issues des positions axiales  $Z = 1, 2, 3, 4, 5$  et  $6$  mm pour  $Y = 0$  mm ont été ajoutées.

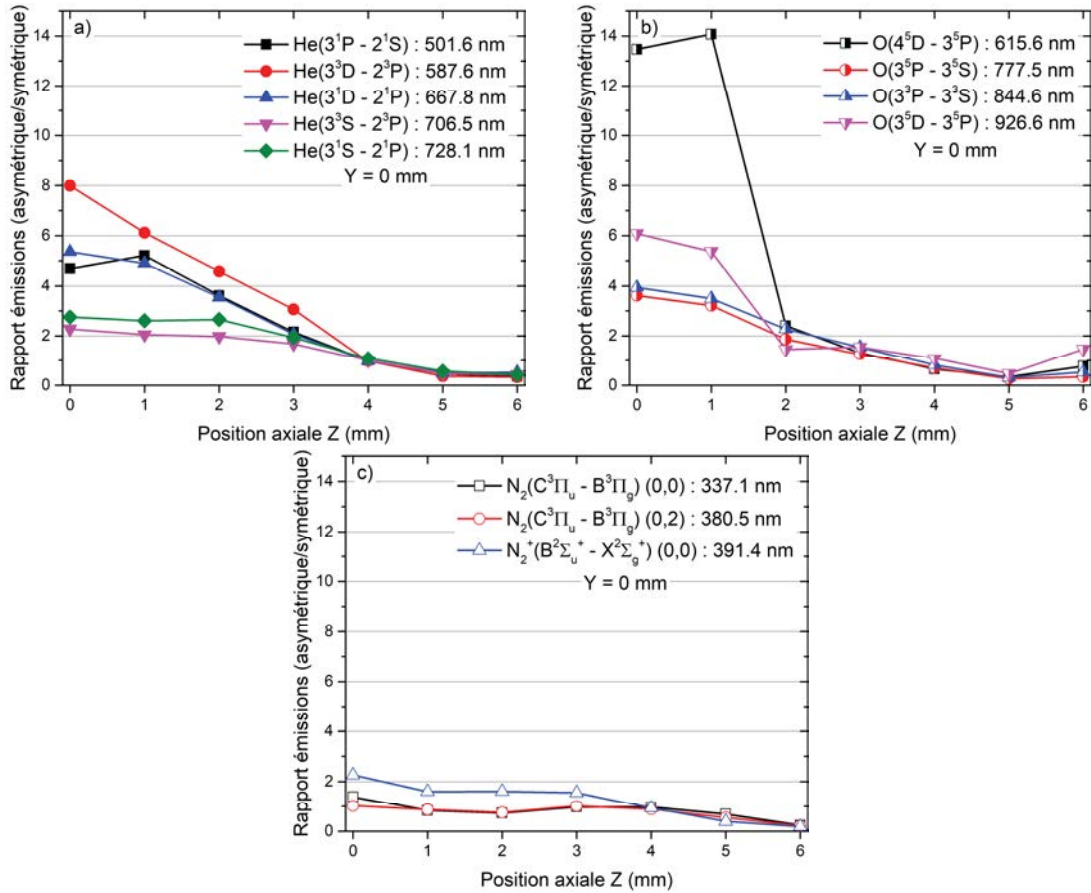


Figure 73 : Rapports des émissions lumineuses de plusieurs espèces excitées en  $Y = 0$  mm du plasma issu de la source asymétrique par rapport au plasma issu de la source symétrique : a) 501.6 nm pour He( $3^1P - 2^1S$ ), 587.6 nm pour He( $3^3D - 2^3P$ ), 667.8 nm pour He( $3^1D - 2^1P$ ), 706.5 nm pour He( $3^3S - 2^3P$ ) et 728.1 nm pour He( $3^1S - 2^1P$ ), b) 615.6 nm pour O( $4^5D - 3^5P$ ), 777.5 nm pour O( $3^5P - 3^5S$ ), 844.6 nm pour O( $3^3P - 3^3S$ ) et 926.6 nm pour O( $3^5D - 3^5P$ ), c) 337.1 nm pour N<sub>2</sub>( $C^3\Pi_u - B^3\Pi_g$ )(0,0), 380.5 nm pour N<sub>2</sub>( $C^3\Pi_u - B^3\Pi_g$ )(0,2) et 391.4 nm pour N<sub>2</sub><sup>+</sup>( $B^2\Sigma_u^+ - X^2\Sigma_g^+$ )(0,0).

Les émissions issues de la source asymétrique sont beaucoup plus intenses quelles que soient la position axiale et l'espèce excitée ciblée.

Les émissions associées à l'hélium (Figure 73 a) sont 2 à 8 fois plus élevées dans le cas de la source asymétrique. La présence du réservoir de cette source permet d'apporter une chimie réactionnelle en phase gazeuse différente, ce qui semble renforcer les émissions du gaz plasmagène, constitué en majorité d'hélium. C'est ce qui a déjà été observé après comparaison de la densité d' $\text{He}^{\text{M}}$  des plasmas issus des deux sources différentes : la source asymétrique permet de maximiser la production des  $\text{He}^{\text{M}}$  partout dans le jet de plasma. La transition de l'hélium à 587.6 nm est la deuxième transition la plus intense sur le spectre de la source asymétrique (après l'émission de l'oxygène à 777.5 nm), à l'inverse du spectre de la source symétrique dont l'émission à 587.6 nm est beaucoup plus faible et n'est plus la seconde émission dominant le spectre. L'émission à 706.5 nm semble en effet moins affectée par la géométrie de la source, le rapport associé à cette émission est d'environ d'un facteur 2 au centre de la décharge, avant de diminuer jusqu'à 1 après 4 mm. Les autres émissions de l'hélium ont quant à elles des rapports plus faibles, variant entre 3 et 5 en  $Z = 0$  mm.

L'étude des émissions de l'oxygène (Figure 73 b) met en avant un phénomène identique à celui observé avec l'émission de l'hélium à 587.6 nm : l'émission de l'oxygène atomique à 615.6 nm est nettement réduite avec l'utilisation de la source symétrique, d'où la grosse différence observée entre les deux sources entre  $Z = 0$  et 1 mm. Les tendances des trois autres émissions sont similaires aux cas intermédiaires des émissions de l'hélium : le rapport entre les deux sources varie entre 6 et 4 à  $Z = 0$  mm, avant de tendre vers 1 à 4 mm.

A l'inverse, le cas des émissions du diazote (Figure 73 c) semble relativement peu affecté par la symétrie de la source, en particulier les émissions du SPS de  $\text{N}_2$  (337.1 et 380.5 nm) dont le rapport avoisine le facteur 1 quel que soit la position ciblée. Les émissions du FNS de  $\text{N}_2$  à 391.4 nm semblent quant à elles plus fortes vers le centre de la décharge avec la source asymétrique. Ceci peut s'expliquer une fois de plus par la plus grande population des  $\text{He}^{\text{M}}$  dans cette même source : ces espèces sont parmi les seules à pouvoir fournir une énergie suffisante pour produire l'état  $\text{N}_2^+(\text{B}^2\Sigma_u^+)$  [193]. Le profil des émissions du FNS de  $\text{N}_2$  est donc fortement dépendant de celui de la densité des  $\text{He}^{\text{M}}$ .

Après une position axiale de  $Z = 4$  mm, le rapport a tendance à passer sous la barre des 1, signalant que les émissions sont cette fois-ci plus fortes avec la source symétrique. Deux phénomènes peuvent expliquer cela : d'une part les émissions peuvent être extrêmement faibles et devenir comparables au bruit enregistré. D'autre part le jet de plasma issu de la source symétrique est légèrement plus large que celui de l'autre source, d'où une ligne de visée intégrée par le spectromètre plus longue (donc un signal recueilli légèrement plus important).

Nos mesures de spectroscopie optique ne nous permettent pas de suivre l'évolution temporelle du jet de plasma : les raies d'émissions du plasma sont recueillies sans distinction entre les impulsions de tension et entre les fronts d'une même impulsion, c'est-à-dire lorsque le plasma est éteint. Dans ces conditions nous ne pouvons donc pas conclure sur la préférence de production des espèces pendant une fenêtre temporelle précise. A titre d'exemple, une durée d'acquisition de 100 ms correspond à 2000 périodes du plasma, soit à 5 ms d'impulsions (2 fronts + 2 plateaux à 6 kV) et 95 ms de tension nulle. C'est dans le but d'étudier les comportements temporels de certaines émissions, dont la présence a été assurée par OES, qu'une caméra iCCD a été utilisée. La fenêtre temporelle très courte qu'elle peut nous offrir (3 ns) permet de cibler la présence de différentes émissions au cours de la décharge.

L'imagerie iCCD permet de suivre temporellement et spatialement la propagation du jet de plasma à la sortie de la source, jusqu'à son contact avec la cible liquide. L'étude du comportement du plasma peut également se poursuivre après ce contact par l'observation du plasma qui peut persister plusieurs centaines de nanosecondes ensuite. L'ajout de filtre interférentiel entre la caméra et son objectif permet de sélectionner l'émission dont nous voulons suivre l'évolution spatio-temporelle (avec une bande passante de 10 nm). Les espèces excitées que nous allons suivre sont listées dans le Tableau 11.

Tableau 11 : Liste et caractéristiques des filtres utilisés.

Longueur d'onde centrale du filtre	Bande passante	Longueur d'onde de la transition visée	Transition
380 nm	10 nm	380.5 nm	$N_2(C^3\Pi_u - B^3\Pi_g)(0,2)$
390 nm	10 nm	391.1 nm	$N_2^+(B^2\Sigma_u^+ - X^2\Sigma_g^+)(0,0)$
700 nm	10 nm	706.5 nm	$He(3^3S - 2^3P)$
780 nm	10 nm	777.5 nm	$O(3^5P - 3^5S)$

Toutes les images obtenues avec la caméra iCCD ont subi l'inversion d'Abel et ont été symétrisé par rapport à l'axe central (correspondant à  $R = 0$  mm). Rappelons que comme le jet de plasma n'est pas toujours symétrique par rapport à cet axe, l'extrémité du jet de plasma peut dans certains cas sembler ouverte, ce qui signifie que le jet de plasma s'est physiquement déplacé aléatoirement sur la surface du liquide.

### 2.2.1. Source asymétrique et front montant

La Figure 74 présente les images de la caméra obtenues avec et sans filtre interférentiel, intégrées sur 3 ns chacune, après inversion d'Abel, pour le front montant de l'impulsion avec la source asymétrique. Seule la partie du plasma qui se propage dans l'air est représentée.

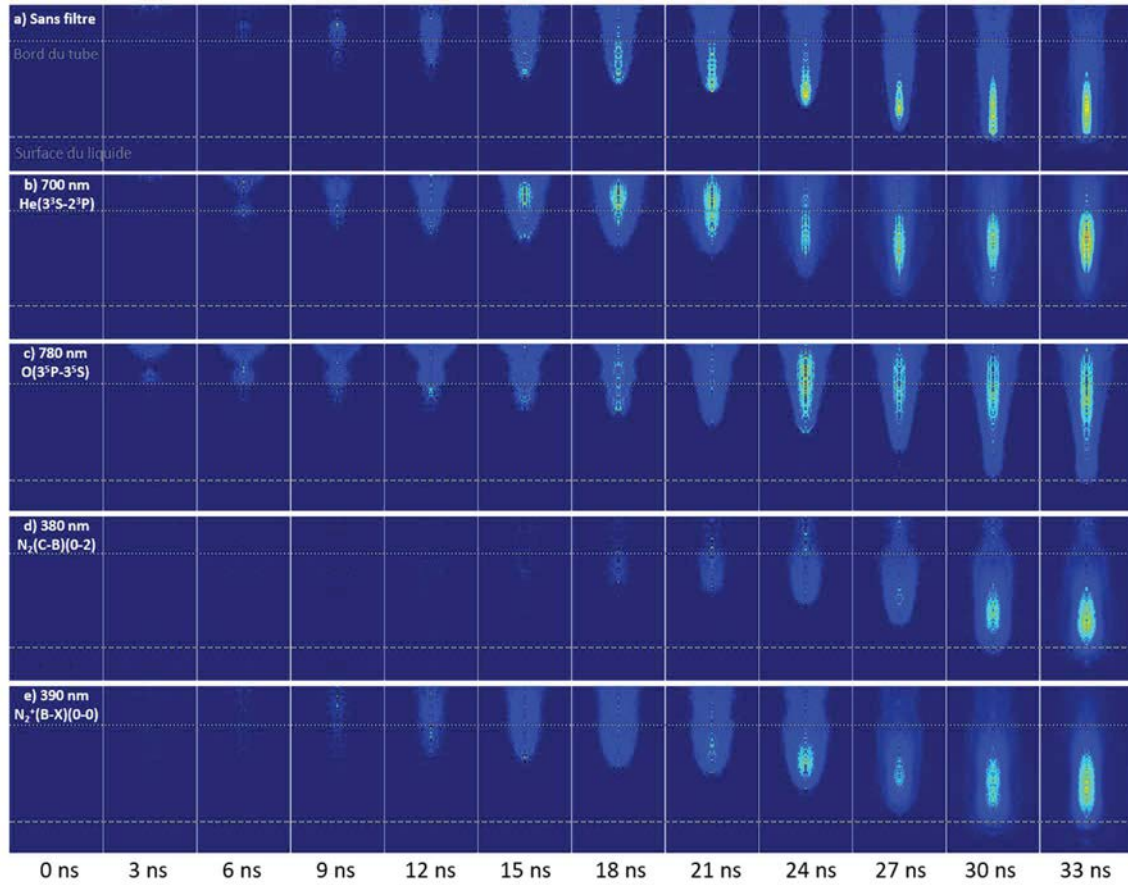


Figure 74 : Propagation du front d'ionisation du plasma généré lors du front montant de l'impulsion dans la source asymétrique après inversion d'Abel. Les émissions lumineuses sont observées dans l'ensemble du jet de plasma a) sans filtre, ou avec des filtres : b) 706.5 nm pour  $\text{He}(3^3S - 2^3P)$ , c) 777.5 nm pour  $\text{O}(3^5P - 3^5S)$ , d) 380.5 nm pour  $\text{N}_2(C^3\Pi_u - B^3\Pi_g)(0,2)$  et e) 391.4 nm pour  $\text{N}_2^+(B^2\Sigma_u^+ - X^2\Sigma_g^+)(0,0)$ .

Rappelons que les valeurs des intensités lumineuses ne peuvent pas être comparées entre différents filtres, seule la comparaison entre les images obtenues avec un même filtre peut être effectuée. Chaque image est normalisée par rapport à son propre maximum. Toutes les émissions obtenues avec les filtres sont intégrées sur des temps dix fois plus long que le cas sans filtre (notamment à cause de la sélection d'une faible plage de longueur d'onde, de la réponse de la caméra à cette longueur d'onde, et de la transmission du filtre).

A la sortie de la source, le front d'ionisation du plasma atteint la surface du liquide après 24 ns environ. La vitesse du front dans l'air est donc de  $2.5 \cdot 10^5 \text{ m.s}^{-1}$  à  $0.5 \cdot 10^5 \text{ m.s}^{-1}$  près (cette incertitude est calculée par la prise en compte d'une image supplémentaire dans le calcul de la vitesse). Le comportement du plasma pour des temps supérieurs à 33 ns n'est pas représenté car seule l'intensité des émissions augmente pendant plusieurs dizaines de nanosecondes, avant de diminuer sur plusieurs centaines de nanosecondes : la forme des émissions reste identique au fur et à mesure que le temps défile après le contact.

Sur la Figure 75 sont représentées les émissions lumineuses le long des axes  $Z = 0$  (sortie de la source), 1, 2, 3, 4, 5 et 6 mm (surface du liquide), afin de distinguer plus clairement le comportement des intensités d'émissions juste après le contact plasma/liquide (soit à 33 ns comme indiqué sur la Figure 74). Les intensités contenues dans un seul graphique (donc pour un seul filtre) sont là-aussi normalisées par rapport au maximum d'intensité parmi toutes les positions axiales. L'axe des ordonnées est volontairement allongé car lors du front descendant de l'impulsion, les intensités seront normalisées par les mêmes facteurs associés à la Figure 75. Parfois, certaines intensités dépasseront 1 car le plasma généré lors du front descendant peut être plus lumineux.

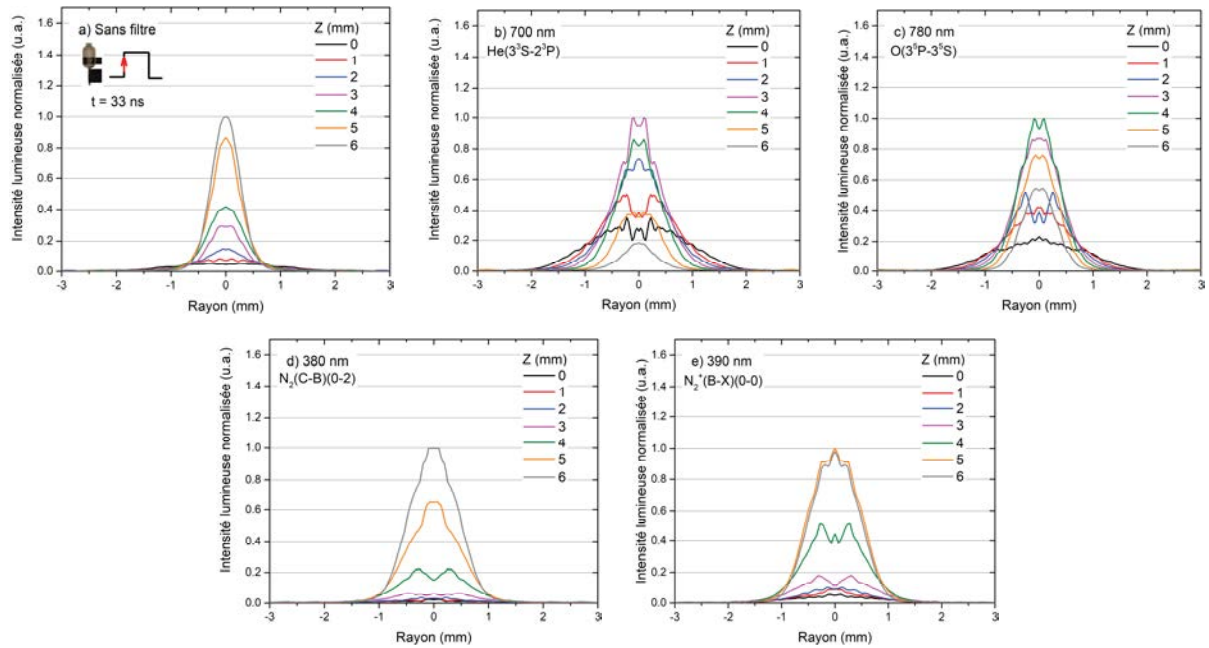


Figure 75 : Intensités normalisées relevées le long des axes  $Z = 0, 1, 2, 3, 4, 5$  et  $6$  mm provenant des images de la Figure 74 à 33 ns (front montant de l'impulsion et source asymétrique). Les intensités des émissions lumineuses sont observées a) sans filtre, ou avec des filtres : b) 706.5 nm pour  $\text{He}(3^3S - 2^3P)$ , c) 777.5 nm pour  $\text{O}(3^5P - 3^5S)$ , d) 380.5 nm pour  $\text{N}_2(\text{C}^3\Pi_u - \text{B}^3\Pi_g)(0,2)$  et e) 391.4 nm pour  $\text{N}_2^+(\text{B}^2\Sigma_u^+ - \text{X}^2\Sigma_g^+)(0,0)$ .

Le cas sans filtre montre des émissions principalement situées au centre du canal de gaz rare, qui diminuent en intensité avec l'augmentation du rayon de la décharge. Comme l'intensité du champ électrique est maximale le long de l'axe de la décharge, il y a un renforcement à cet endroit des particules énergétiques du plasma telles que les électrons ou les  $\text{He}^M$ . Dans ce cas, les désexcitations radiatives sont principalement localisées autour du centre de la décharge, là où les excitations des espèces ont lieu.

Les évolutions spatio-temporelles des états  $\text{He}(3^3S)$  et  $\text{O}(5P)$  sont similaires. Leur maximum d'émission est en effet proche de la sortie du tube de la source, même après le



contact plasma/liquide. L'hélium et le dioxygène faisant partie intégrante du gaz injecté dans la décharge, l'élévation rapide de la tension dans le canal de gaz rare permet la génération d'électrons suffisamment énergétiques, et donc d' $\text{He}^M$ , pour exciter ces espèces avant qu'elles ne pénètrent dans l'air. Le mécanisme de perte des états de l' $\text{O}(^5\text{P})$  pourrait être attribué à la production de l'ozone selon un mécanisme impliquant des molécules de dioxygène [194]. Le mécanisme impliquant la perte de l'état  $\text{He}(3^3\text{S})$ , tout comme les  $\text{He}^M$ , est principalement l'effet Penning avec les molécules de l'air (en plus du dioxygène injecté initialement dans la décharge), c'est ce que nous observons avec leur faible émission après la sortie du tube.

L'ionisation Penning est directement reliée à la production du FNS de  $\text{N}_2$ , en particulier lorsque le plasma se propage dans l'air [193], [195]. Le SPS de  $\text{N}_2$  nécessite moins d'énergie que celle associée à l'excitation du FNS, d'autres mécanismes de création sont alors possibles par d'autres espèces d'énergies plus faibles. Dans les deux cas, ces émissions sont principalement localisées dans la partie du plasma en contact avec l'air, spécifiquement proche de la surface du liquide. L'énergie engagée dans la production du SPS de  $\text{N}_2$  étant moins importante que celle permettant la création du FNS de  $\text{N}_2$ , on pourrait s'attendre à ce que les émissions de ces deux espèces soient étroitement liées. Si des électrons relativement énergétiques et des  $\text{He}^M$  sont présents, le plasma aura tendance à augmenter sa production de FNS de  $\text{N}_2$ . S'il y a moins d'électrons de haute énergie et d' $\text{He}^M$ , ce sera la production de SPS de  $\text{N}_2$  qui sera privilégiée. Dans notre cas ce raisonnement s'applique pour le SPS de  $\text{N}_2$  car il y a peu de particules énergétiques au bout du jet de plasma comme l'ont révélées les mesures d'absorption laser. Il faut cependant noter que comme énoncé précédemment, le filtre associé au FNS de  $\text{N}_2$  peut recueillir les émissions lumineuses provenant des systèmes  $\text{N}_2(\text{C}^3\Pi_u - \text{B}^3\Pi_g)(3,6)$  à 389.4 nm et  $\text{N}_2(\text{C}^3\Pi_u - \text{B}^3\Pi_g)(2,5)$  à 394.3 nm, ce qui pourrait expliquer pourquoi le maximum des émissions lumineuses du FNS de  $\text{N}_2$  ne suit pas exactement la répartition des  $\text{He}^M$  mesurée précédemment.

### 2.2.2. Source asymétrique et front descendant

Le plasma apparaissant lors du front descendant est complètement différent de celui créé lors du front montant. En effet, la préionisation du gaz énoncé dans la partie liée à la mesure de la densité d' $\text{He}^M$  (où les  $\text{He}^M$  ont tendance à se former en plus grand nombre lors du front descendant grâce à la proximité temporelle du front montant), permet au plasma de se former dans un canal déjà conducteur, d'où la rapidité de sa création à l'arrivée du front descendant de l'impulsion. La Figure 76 présente les images de la caméra obtenues avec et sans filtre interférentiel intégrées sur 3 ns chacune, après inversion d'Abel, pour le front descendant de l'impulsion. Une fois encore toutes les émissions obtenues avec les filtres ont dû être intégrées sur des temps dix fois plus long

que le cas sans filtre. A noter que pour plus de lisibilité sur les images, l'origine du temps « 0 ns » correspond au début du front descendant, soit 2.5  $\mu$ s après le début de l'impulsion.

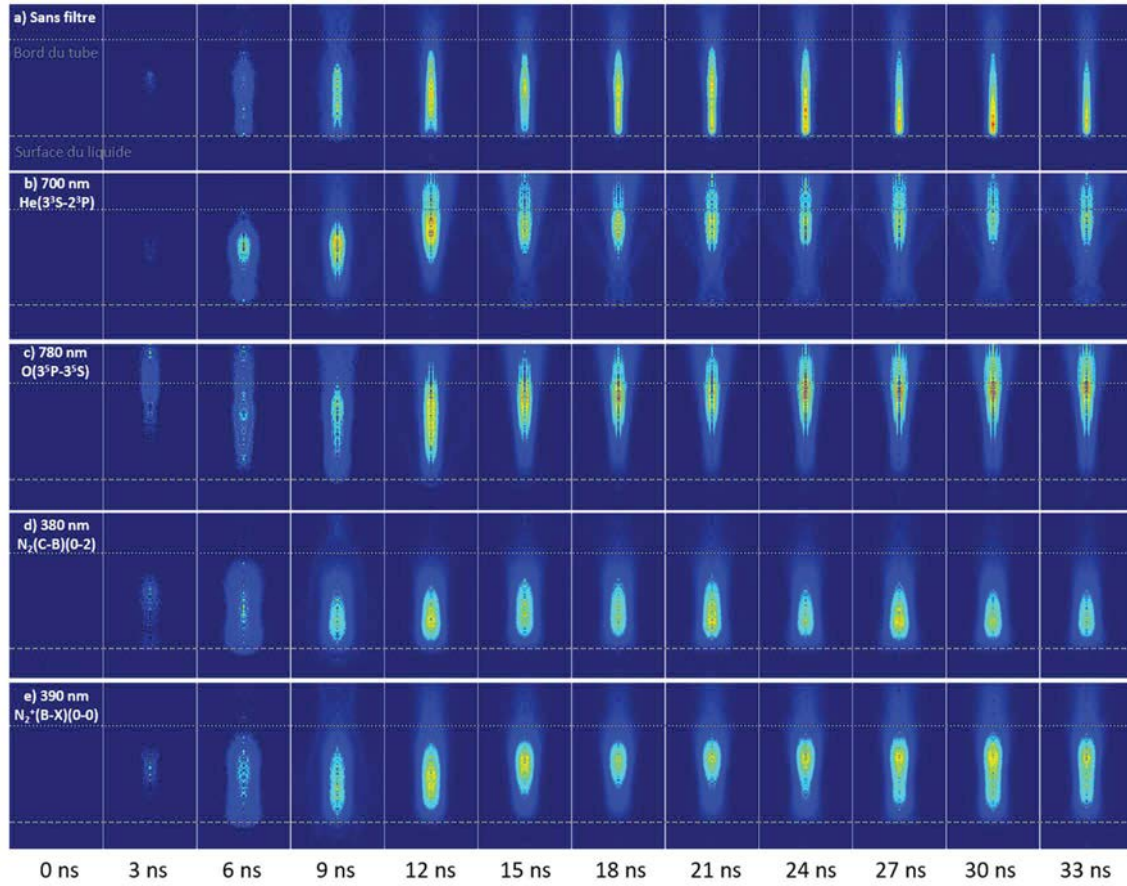


Figure 76 : Propagation du front d'ionisation du plasma généré lors du front descendant de l'impulsion dans la source asymétrique après inversion d'Abel. Les émissions lumineuses sont observées dans l'ensemble du jet de plasma a) sans filtre, ou avec des filtres : b) 706.5 nm pour  $\text{He}(3^3S - 2^3P)$ , c) 777.5 nm pour  $\text{O}(3^5P - 3^5S)$ , d) 380.5 nm pour  $\text{N}_2(C^3\Pi_u - B^3\Pi_g)(0,2)$  et e) 391.4 nm pour  $\text{N}_2^+(B^2\Sigma_u^+ - X^2\Sigma_g^+)(0,0)$ .

Les intensités radiales selon les positions  $Z = 0, 1, 2, 3, 4, 5$  et 6 mm sont également représentées à 15 ns (phase stationnaire du plasma après le contact plasma/liquide) sur la Figure 77. Les facteurs de normalisation sont ceux utilisés sur la Figure 75, certaines intensités dépassent l'unité ce qui indique qu'elles sont plus élevées par rapport aux intensités du plasma généré lors du front montant de l'impulsion.

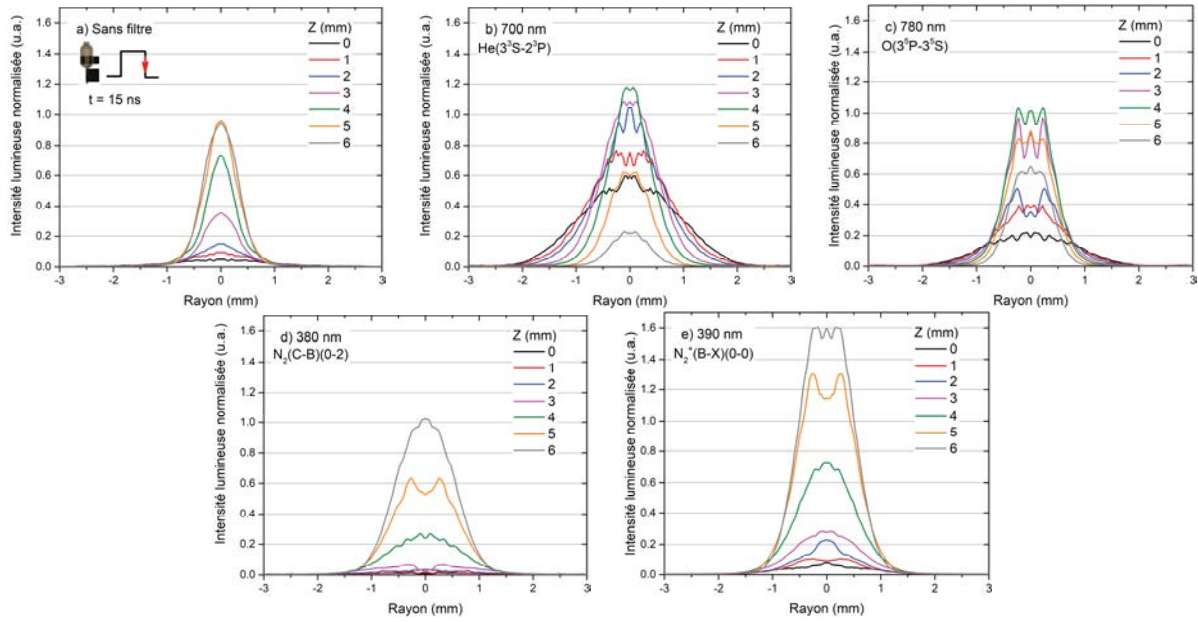


Figure 77 : Intensités normalisées relevées le long des axes  $Z = 0, 1, 2, 3, 4, 5$  et  $6$  mm provenant des images de la Figure 76 à  $15$  ns (front descendant de l'impulsion et source asymétrique). Les intensités des émissions lumineuses sont observées a) sans filtre, ou avec des filtres : b)  $706.5$  nm pour  $\text{He}(3^3S - 2^3P)$ , c)  $777.5$  nm pour  $\text{O}(3^5P - 3^5S)$ , d)  $380.5$  nm pour  $\text{N}_2(\text{C}^6\Pi_u - \text{B}^3\Pi_g)(0,2)$  et e)  $391.4$  nm pour  $\text{N}_2^+(\text{B}^2\Sigma_u^+ - \text{X}^2\Sigma_g^+)(0,0)$ .

Le régime « stationnaire » du jet de plasma est atteint bien plus rapidement par rapport au front montant. La vitesse de propagation du front d'ionisation est d'ailleurs si rapide qu'elle ne peut pas être mesurée sur ces images de manière fiable, malgré la fenêtre de  $3$  ns utilisée pour ces acquisitions. Le front d'ionisation est capable de se déployer tout le long de l'axe  $Z$  de la décharge en seulement  $6$  ns, principalement grâce à la préionisation du canal de gaz suite au front montant qui le précède de  $2.5$   $\mu\text{s}$ . Concernant les cas sans filtre,  $780$  et  $380$  nm, les émissions sont du même ordre de grandeur entre les deux fronts avec la source asymétrique, de même que leur répartition spatiale. Les filtres à  $700$  et  $390$  nm présentent quant à eux des intensités plus élevées que dans le cas du front montant. L'hypothèse la plus probable repose sur le mécanisme de préionisation du gaz qui renforce la production des  $\text{He}^{\text{M}}$  lors du front descendant, ce qui permet de produire davantage d'espèces nécessitant plus d'énergie, telle que le FNS de  $\text{N}_2$ .

### 2.2.3. Source symétrique et front montant

L'étude des émissions lumineuses du plasma généré dans la source symétrique montre des comportements identiques à celles générées dans la source asymétrique, comme le montre la Figure 78 où les émissions tout le long du jet sont représentées.



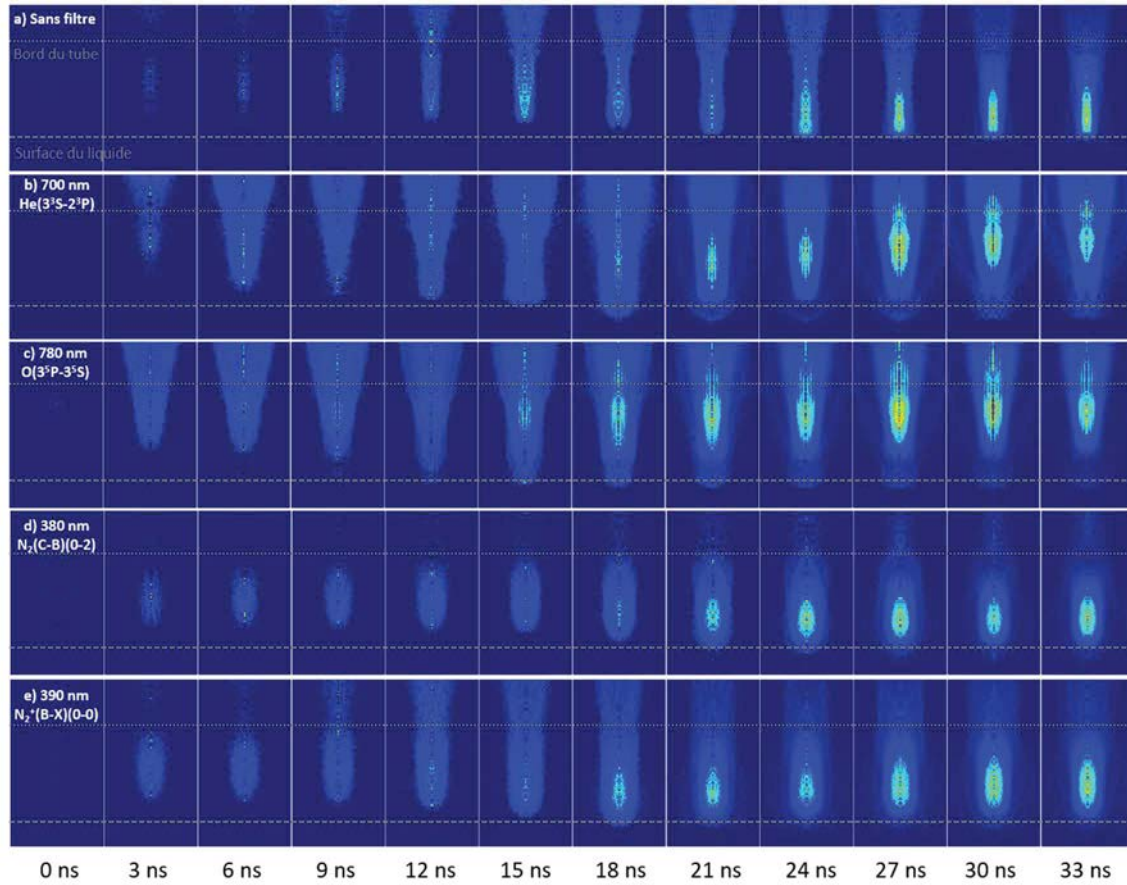


Figure 78 : Propagation du front d'ionisation du plasma généré lors du front montant de l'impulsion dans la source symétrique après inversion d'Abel. Les émissions lumineuses sont observées dans l'ensemble du jet de plasma a) sans filtre, ou avec des filtres : b) 706.5 nm pour  $\text{He}(3^3S - 2^3P)$ , c) 777.5 nm pour  $\text{O}(3^3P - 3^3S)$ , d) 380.5 nm pour  $\text{N}_2(\text{C}^3\Pi_u - \text{B}^3\Pi_g)(0,2)$  et e) 391.4 nm pour  $\text{N}_2^+(\text{B}^2\Sigma_u^+ - \text{X}^2\Sigma_g^+)(0,0)$ .

Les intensités spécifiques aux lignes radiales correspondantes aux positions axiales à 0, 1, 2, 3, 4, 5 et 6 mm à 33 ns sont également représentées sur la Figure 79. Les facteurs de normalisation sont ceux utilisés sur la Figure 75.

Excepté pour le filtre 780 nm, les intensités des émissions lumineuses issues de la source asymétrique sont toujours plus élevées que celles de la source symétrique, à l'instar de la densité des atomes d'hélium métastables. Les émissions lumineuses associées au filtre 780 nm sont particulièrement importantes dans le cas de la source symétrique, signe que les mécanismes réactionnels sont différents selon la géométrie de la source utilisée. Malgré une énergie déposée dans la décharge différente et une géométrie de la source différente, les émissions de l'oxygène restent quasiment inchangées, au contraire des émissions du SPS de  $\text{N}_2$ , du FNS de  $\text{N}_2$ , ou encore de l'hélium à 706 nm. L'énergie d'excitation de l'oxygène pour atteindre l'état  $\text{O}(3^3P)$  est pourtant du même ordre de grandeur que celle permettant d'exciter le SPS de  $\text{N}_2$  (respectivement 10.7 et 11 eV).

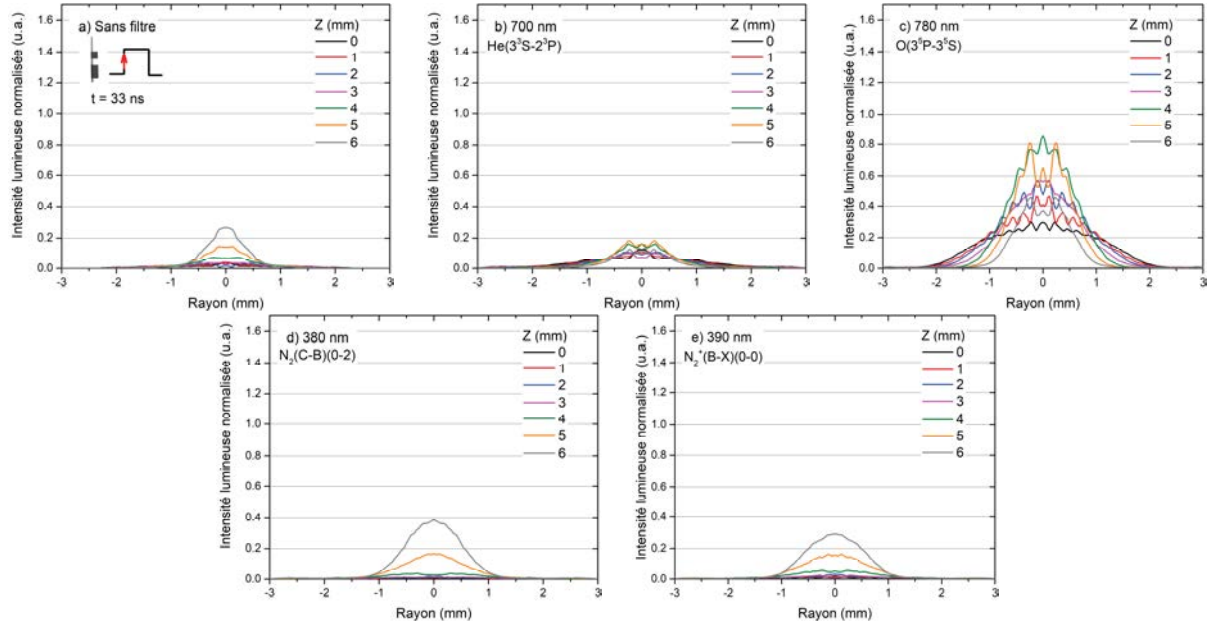


Figure 79 : Intensités normalisées relevées le long des axes  $Z = 0, 1, 2, 3, 4, 5$  et  $6$  mm provenant des images de la Figure 78 à  $33$  ns (front montant de l'impulsion et source symétrique). Les intensités des émissions lumineuses sont observées a) sans filtre, ou avec des filtres : b)  $706.5$  nm pour  $\text{He}(3^3S - 2^3P)$ , c)  $777.5$  nm pour  $\text{O}(3^5P - 3^5S)$ , d)  $380.5$  nm pour  $\text{N}_2(\text{C}^3\Pi_u - \text{B}^3\Pi_g)(0,2)$  et e)  $391.4$  nm pour  $\text{N}_2^+(\text{B}^2\Sigma_u^+ - \text{X}^2\Sigma_g^+)(0,0)$ .

Les émissions lumineuses générées lors du front descendant avec la source symétrique ne sont pas représentées car elles n'apportent aucune information supplémentaire sur la comparaison entre les deux sources : que le front soit montant ou descendant, les émissions lumineuses du plasma généré dans la source symétrique sont moins importantes que la source asymétrique. De plus, de la même manière qu'avec la source asymétrique, les émissions lumineuses sont renforcées lors du front descendant avec la source symétrique.

### 3. Conclusion

Les atomes d'hélium métastables représentent un des témoins de la quantité d'espèces réactives générée en phase gazeuse. Leur quantification représente donc un point crucial lors de l'optimisation d'une application d'un jet de plasma visant à détruire les contaminants que pourraient contenir une cible liquide. Dans ce but, les densités et les temps de décroissance des  $\text{He}^M$  ont été mesurés quantitativement dans le jet de plasma. L'utilisation de l'inversion d'Abel a permis de s'affranchir des mesures intégrées le long de la ligne de visée du laser. Ainsi, chaque densité et chaque temps de décroissance sont mesurés en fonction du rayon de la décharge. Il a été montré que la source asymétrique fournit une plus grande quantité d' $\text{He}^M$  dans la quasi-totalité du jet de plasma, comparé

à la source symétrique. Ceci peut s'expliquer par la quantité d'électrons moins perdue aux parois de la source asymétrique, grâce à la présence d'un réservoir au niveau de l'électrode de masse qui permet d'éloigner les parois entre elles. La création des  $\text{He}^{\text{M}}$  est directement dépendante du champ électrique qui règne dans la décharge, la forme de ce champ conditionne la forme de la densité de ces espèces. Le front descendant de l'impulsion est capable de fournir la plus grande densité d' $\text{He}^{\text{M}}$  grâce à la préionisation qu'offre le front montant se situant  $2.5 \mu\text{s}$  juste avant. Les temps de décroissance sont du même ordre de grandeur entre les deux sources pour un débit de  $0.5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ . L'écart se creuse significativement avec l'augmentation du débit jusqu'à  $2 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$  : la source symétrique fournit des temps de décroissance 20 ns plus élevée que ceux associées à la source asymétrique, au moins dans la zone centrale du jet de plasma. L'augmentation du débit jusqu'à  $2 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$  permet de rendre le canal de gaz plus pur en  $\text{He}/\text{O}_2$ , réduisant la quantité d'impuretés provenant de l'air environnant capable de pénétrer à l'intérieur du jet de plasma, comme l'ont prouvé les temps de décroissance qui sont presque doublés en quadruplant le débit du mélange. L'apparition d'un anneau est visible en augmentant le débit, témoin d'un profil d'excitation de la même forme, se rapprochant du cas où de l'hélium pur est utilisé. Lorsque le mélange  $\text{He}/\text{O}_2$  a été remplacé par de l'hélium pur, un phénomène de saturation peut apparaître lorsque l'absorption est trop forte ( $> 95 \%$ ) faussant ainsi les valeurs des densités d' $\text{He}^{\text{M}}$ . Pour éviter cela, l'utilisation d'un profil théorique est recommandée pour ajuster le profil expérimental à l'aide de la transition  $2^3\text{S}_1 \rightarrow 3^3\text{P}_0$ , moins affectée par les hautes densités étant donné sa plus faible force d'oscillateur parmi les trois transitions en jeu.

La spectroscopie d'émission optique permet de mettre en évidence la variété d'espèces excitées du plasma, principalement composée de l'interaction entre les espèces du plasma et l'air environnant. L'étude en un point donné des spectres issus du plasma généré dans chacune des deux sources montre une concentration plus grande d'espèces excitées lors de l'utilisation de la source asymétrique. Ce résultat corrobore l'étude portant sur la densité des  $\text{He}^{\text{M}}$  qui s'est révélée être plus grande dans la source asymétrique. Pour aller plus loin dans la caractérisation de la phase gazeuse, un diagnostic supplémentaire (caméra iCCD) permettant de suivre l'évolution spatio-temporelle des espèces excitées a été utilisé avec les deux sources plasmas. Nous avons pu mettre en évidence, grâce aux mesures effectuées avec la caméra iCCD, que la répartition des émissions lumineuses sont principalement situées à proximité de la sortie de la source dans le cas des espèces excités provenant du gaz plasmagène, à savoir les émissions suivantes :  $\text{He}(3^3\text{S} - 2^3\text{P})$  à  $706.5 \text{ nm}$  et  $\text{O}(3^5\text{P} - 3^5\text{S})$  à  $777.5 \text{ nm}$ . A l'inverse, les émissions du SPS et du FNS de  $\text{N}_2$  à respectivement  $380.5 \text{ nm}$  et  $391.4 \text{ nm}$ , sont principalement situées à mi-distance entre la surface du liquide et la sortie de la source, signalant un échange d'énergie entre le plasma et l'air l'environnant à cet endroit. Ces constatations sont valables à la fois pour la source

asymétrique et la source symétrique. Les intensités des espèces excitées sont cependant toujours plus faibles avec l'utilisation de la source symétrique. Le cas particulier des émissions de l'oxygène révèle que le plasma généré dans la source symétrique a tendance à favoriser l'excitation de l'oxygène, par rapport aux trois autres espèces étudiées. Le front descendant montre une propagation du jet de plasma bien plus rapide que lors du front montant, due à la préionisation du gaz engendré par le front montant qui se situe 2.5  $\mu$ s, quelle que soit la source utilisée.



## Chapitre 4 - Influences chimiques du jet de plasma sur la cible liquide

## 1. Introduction

La génération des espèces excitées en phase gazeuse est à l'origine de la formation d'une grande variété d'espèces réactives capables de se déposer en phase liquide. Ainsi, la concentration en espèces réactives de la cible liquide a tendance à augmenter avec la durée du traitement. Les processus réactionnels ayant lieu au sein du liquide et à l'interface entre la phase gazeuse et la phase liquide sont toutefois complexes à déterminer tant les interactions entre les différentes espèces sont nombreuses. Il est donc nécessaire d'étudier ces phénomènes afin de procéder à l'optimisation du traitement du liquide en termes de génération d'espèces réactives, dans le but de mieux comprendre la façon dont le jet de plasma est capable de dégrader les polluants contenus dans l'eau.

Dans ce chapitre, les problématiques suivantes sont mises en avant :

- quelles sont les influences de la distance entre la source et la surface du liquide, le débit et la durée des impulsions sur le dépôt et la génération des espèces réactives ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{NO}_2^-$  et  $\text{NO}_3^-$ ) en phase liquide ?
- est-ce que les conditions de température et d'écoulement imposés par le plasma sont suffisamment faibles pour éviter une forte évaporation du liquide à traiter ?
- quelle est l'influence de la géométrie de la source sur les trois RONS mesurées en phase liquide ?
- quels sont les mécanismes réactionnels pouvant expliquer les différences de la concentration des trois RONS mesurée en phase liquide ?
- quels sont les effets des RONS et des autres agents oxydants générés par le plasma sur la dégradation d'une molécule complexe telle que le bleu de méthylène ?

## 2. Détermination des conditions opératoires à fixer (distance, débit et durée d'impulsion)

Lors du traitement d'une cible liquide par un jet de plasma, le nombre de paramètres qui régissent le traitement peut rapidement être élevé : le temps de traitement, la position du liquide sous le jet de plasma, les caractéristiques électriques de la décharge, le débit, le gaz plasmagène, pour n'en citer que certains. Il convient dans ce cas de fixer plusieurs de ces paramètres pour n'en conserver qu'une petite quantité afin de ne pas alourdir le nombre de mesures. Dans cette optique, ce sont les concentrations associées aux RONS  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{NO}_2^-$  et  $\text{NO}_3^-$  qui agiront comme des révélateurs des valeurs optimales des paramètres que l'on souhaite déterminer : nous cherchons à maximiser la production de ces trois espèces simultanément.

Les deux premiers paramètres que nous avons choisi de fixer sont le débit du gaz injecté dans la décharge et la distance entre la sortie de la source et la surface du liquide. Pour étudier leur influence, le temps de traitement est fixé à 5 minutes, la durée des impulsions à 2.5  $\mu\text{s}$  et seule la source asymétrique est utilisée. La Figure 80 montre l'évolution des concentrations de ces trois espèces en phase liquide, en fonction de la distance entre la sortie de la source et le liquide, pour trois différents débits.

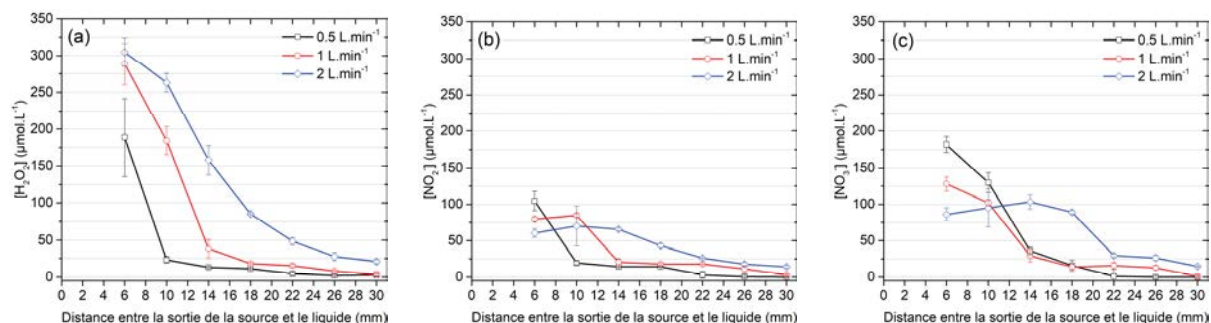


Figure 80 : Effets du débit et de la distance entre la sortie de la source asymétrique et la cible liquide sur les concentrations en a)  $\text{H}_2\text{O}_2$ , b)  $\text{NO}_2^-$  et c)  $\text{NO}_3^-$  après 5 minutes de traitement et une durée d'impulsion de 2.5  $\mu\text{s}$ .

Ces mesures prouvent qu'il n'y a pas de solution simple pour obtenir le maximum des trois concentrations de ces RONS pour un même couple débit/distance. D'une part l'utilisation du débit le plus grand (2  $\text{L.min}^{-1}$ ) permet de maximiser la production des  $\text{H}_2\text{O}_2$ , quelle que soit la distance. D'autre part pour les  $\text{NO}_2^-$  et les  $\text{NO}_3^-$ , c'est le débit le plus faible (0.5  $\text{L.min}^{-1}$ ) avec une distance de 6 mm qui procure la concentration en  $\text{NO}_x$  la plus élevée. Le plus grand débit fournit des concentrations maximales de  $\text{NO}_x$  pour une distance plus élevée : autour de 14 mm. Comme ce couple de valeur débit/distance ferait chuter drastiquement la concentration des  $\text{H}_2\text{O}_2$  par rapport à une distance de 6 mm à n'importe quel débit, le plus grand débit ainsi que le débit moyen ont été écartés pour garantir une relative grande concentration de chacun de ces trois RONS. De plus, l'utilisation d'un débit relativement faible permet de réduire le coût des expériences en réduisant le volume de gaz utilisé. Ainsi, pour un débit de 0.5  $\text{L.min}^{-1}$ , une distance de 6 mm a été choisie pour que chaque espèce ait une concentration maximale. A noter que mis à part le cas des  $\text{NO}_x$  à 2  $\text{L.min}^{-1}$ , toutes les concentrations des espèces ont tendance à diminuer avec l'augmentation de la distance, ce qui justifie le choix d'utiliser la distance la plus petite. Cette petite distance permet également d'obtenir un jet de plasma relativement stable. Ainsi, un débit de 0.5  $\text{L.min}^{-1}$  et une distance de 6 mm ont été choisis.

La durée des impulsions constitue le troisième paramètre dont on veut fixer la valeur. Le choix de cette durée est bridé par le passage à l'arc entre le plasma et l'électrode haute tension, qui a tendance à s'effectuer en augmentant cette valeur. Nous nous plaçons donc en-dessous de cette valeur limite correspondant dans notre cas à 10  $\mu\text{s}$ . Trois durées ont



ainsi été étudiées : 0.5, 2.5 et 5  $\mu\text{s}$  (rapport cyclique de 1, 5 et 10% respectivement). La Figure 81 représente l'influence de cette durée sur la concentration des RONS, pour un débit de 0.5 L.min<sup>-1</sup> et une distance de 6 mm, lors de l'utilisation de la source asymétrique.

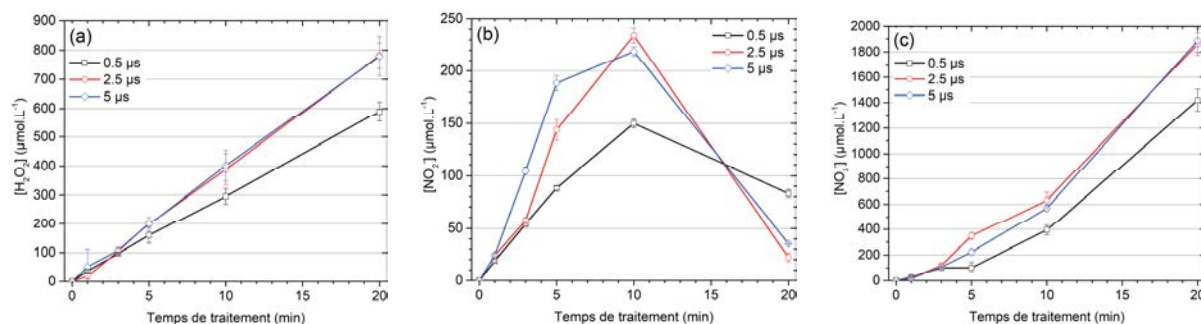


Figure 81 : Effets de la durée de l'impulsion sur les concentrations en a)  $\text{H}_2\text{O}_2$ , b)  $\text{NO}_2^-$  et c)  $\text{NO}_3^-$  avec un débit de 0.5 L.min<sup>-1</sup>, une distance de 6 mm et la source asymétrique.

Une durée de 0.5  $\mu\text{s}$  est à l'origine d'une production toujours inférieure des RONS par rapport aux deux autres durées, quel que soit le temps de traitement. Il semblerait qu'un seuil apparaisse entre 2.5 et 5  $\mu\text{s}$ , comme les concentrations obtenues pour ces deux temps sont presque les mêmes. La durée de l'impulsion est un paramètre important dans la propagation du plasma [196]. Dans notre cas, la durée des impulsions est fixée à 2.5  $\mu\text{s}$  comme il n'y a pas de modification sur les concentrations des RONS en continuant d'augmenter ce temps, d'autant plus que travailler à des durées supérieures peut favoriser le passage à l'arc du plasma, ce que l'on veut éviter.

### 3. Mesures de la température et de la perte de masse de la cible liquide

Le jet de plasma possède une température de gaz proche de la température ambiante, ce qui permet de traiter des cibles sensibles à la température. On peut en effet comprendre facilement l'intérêt d'utiliser un tel procédé : son caractère relativement « froid » permet de ne pas provoquer une évaporation trop rapide du liquide traité, tout en agissant chimiquement sur celui-ci.

La Figure 82 représente la perte de masse du liquide traitée par rapport à sa masse initiale, en fonction du temps de traitement pour chacune des deux sources. Le gaz seul (sans plasma) appliqué pendant 20 minutes au liquide ne provoque qu'une très faible perte de masse (< 0.3 %), la contribution du gaz seul au même débit est donc négligée dans le processus d'évaporation du liquide.

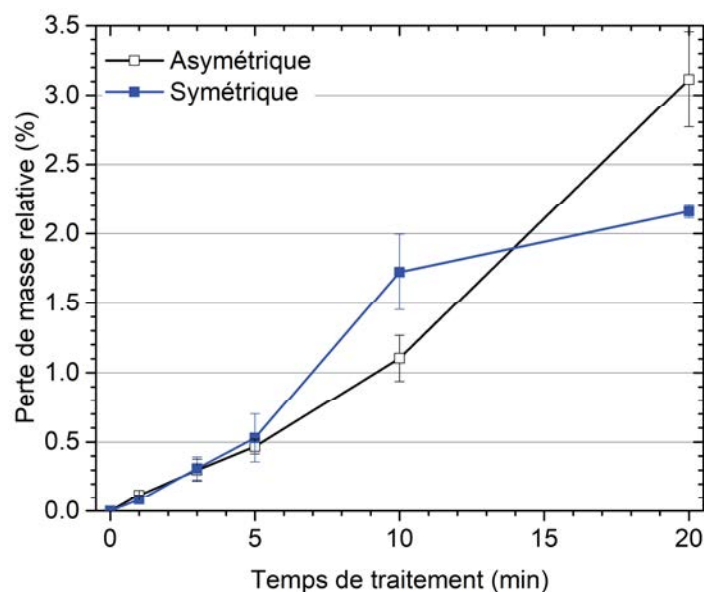


Figure 82 : Evaporation du liquide au cours du traitement avec les plasmas des deux sources.

L'évaporation du liquide est très faible même après 20 minutes de traitement, elle atteint des valeurs de 3% et 2.1% de la masse totale du liquide pour les sources asymétrique et symétrique respectivement. En conséquence, comme l'évaporation est très faible quel que soit le temps de traitement, les concentrations des différents RONS mesurées en phase liquide ne seront pas corrigées par le changement du volume total du liquide à la fin de son traitement.

Le relevé de la température du liquide à la fin de son traitement est représenté sur la Figure 83.

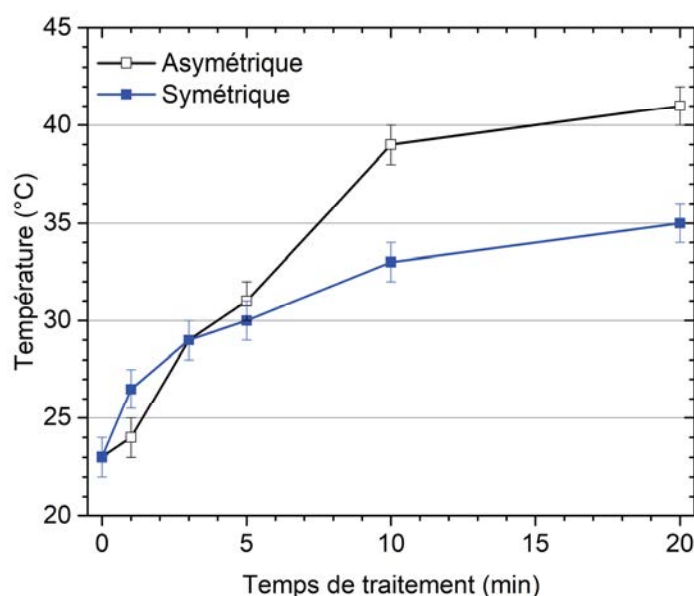


Figure 83 : Température du liquide mesurée à la fin du traitement avec les plasmas des deux sources.

La température du liquide est initialement de 23 °C (0 minute) avant d'atteindre 41 et 35 °C après 20 minutes de traitement pour les sources asymétrique et symétrique respectivement. La température du liquide reste donc relativement faible au cours du traitement, et explique sa faible évaporation. Une durée de traitement plus grande pourrait permettre de faire apparaître un plateau, signifiant que l'équilibre thermique entre le liquide et le jet de plasma en contact avec celui-ci est de plus en plus proche. A noter que le plasma issu de la source asymétrique semble légèrement plus chaud que celui de la source symétrique, comme un écart d'environ 5 °C est mesuré à partir de 10 minutes de traitement.

## 4. Détection et quantification des RONS en phase liquide

Le transfert d'énergie entre le plasma et l'air ambiant représente le phénomène crucial dans la création et le dépôt d'espèces réactives en phase liquide. En effet, la quantité et la variété des espèces excitées en phase gazeuse fournissent des informations sur les espèces déposées et générées en phase liquide. L'interface entre ces deux phases est le siège de nombreuses réactions chimiques : l'interprétation des mécanismes de formation d'une espèce particulière en phase liquide est ainsi très difficile. La complexité provient également de la nature et de la quantité des espèces chimiques, qui peuvent changer en fonction de leur environnement chimique et du nombre de collisions à l'interface gaz/liquide qu'elles subissent. Cette partie concerne la révélation et la quantification des RONS en phase liquide, pour chacune des deux sources plasma utilisées.

### 4.1. Evolution spatio-temporelle des RONS

Le transfert d'une espèce gazeuse jusqu'en phase liquide peut être conceptualisé par un changement de densité : une barrière que l'espèce sous forme gazeuse doit surmonter pour entrer dans la phase liquide [159]. L'utilisation d'une solution contenant de l'amidon et de l'iodure de potassium permet d'évaluer la distribution spatio-temporelle de plusieurs composés oxydants [197]–[200], [155], à savoir : l'ozone dissous, le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène dissous et le nitrate qui sont créés par l'interaction entre le jet de plasma, le gaz l'environnant et le liquide traité. Le complexe coloré (de couleur violette) est généré par la réaction des agents oxydants avec les ions iodures, réagissant ensuite avec l'amidon après transformation en ion triiodure. La Figure 84 montre quelques photographies où la distribution en trois dimensions de ce complexe apparaît au cours du temps, symbolisant le dépôt et la création des RONS cités précédemment en phase liquide. Seule la source asymétrique est utilisée car aucune différence n'est visible avec l'autre source. Comme l'ajout d'une quelconque électrode sous le cristalliseur aurait masqué la création et la diffusion du complexe coloré, les pinces maintenant le cristalliseur ont été reliées à la masse.

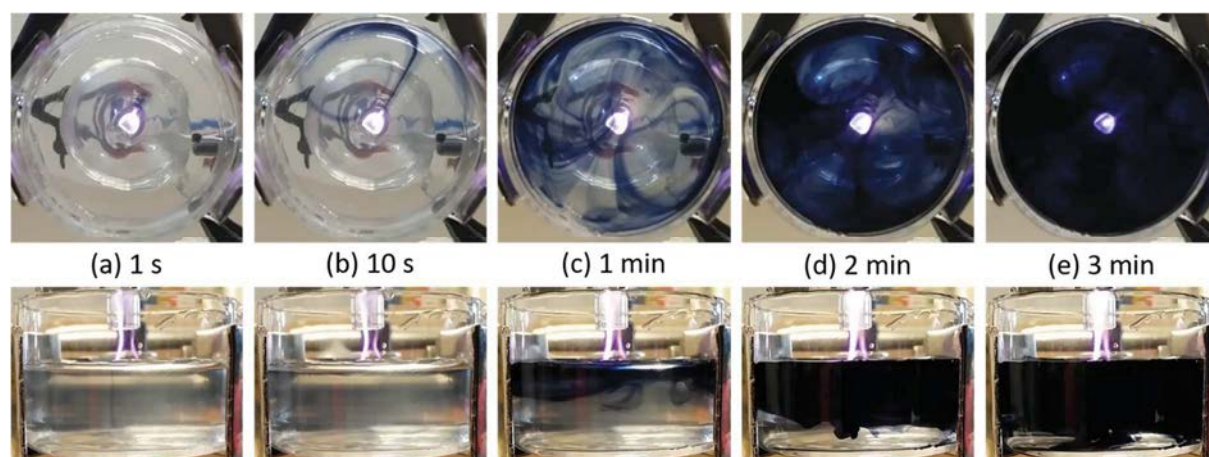


Figure 84 : Vues du dessous (en haut) et de côté (en bas) du traitement d'une solution contenant un mélange de KI/amidon après a) 1 s, b) 10 s, c) 1 min, d) 2 min et e) 3 min de traitement par le plasma issu de la source asymétrique.

Le filament violet, observé dès le contact entre le plasma et la surface du liquide, suit un mouvement circulaire à la surface du liquide. Lors des premières secondes du traitement, un filament atteint le fond du cristalliseur en traversant une épaisseur de 11 mm de liquide. Ce phénomène a également été relevé par *Kawasaki et al.* [199]. L'explication la plus probable repose sur l'onde de choc primaire que le jet de plasma délivre au liquide lorsqu'il s'allume, faisant ainsi pénétrer des RONS en phase liquide dès le début du traitement. Ce filament se dissipe ensuite dans tout le volume du liquide en quelques secondes. Un autre filament se développe ensuite à sa surface jusqu'à atteindre l'un des bords du cristalliseur. Plusieurs secondes de traitement sont nécessaires pour faire apparaître un second filament symétriquement opposé au premier. A ce stade, seule la surface du liquide est concernée par l'apparition des complexes. Après 1 minute, ces derniers recouvrent une grosse partie de la surface du liquide en formant un « 8 ». La surface est ensuite totalement occupée par le complexe, avant de diffuser dans tout le volume du liquide. Trois minutes sont nécessaires pour que le complexe violet atteigne le fond du cristalliseur.

L'un des mécanismes principaux expliquant le dépôt des espèces réactives générées dans l'interface gaz/liquide repose sur leur transfert de masse en phase liquide [201]. Cependant, les photographies de la Figure 84 montrent qu'il faut également tenir compte de la convection forcée par le jet de plasma sur le liquide, améliorant ainsi le transfert d'espèces réactives dans cette phase [159]. En effet, la loi de Henry, qui reflète l'équilibre entre la quantité d'une espèce en phase liquide et sa pression partielle en phase gazeuse, permet de forcer le dépôt d'une espèce chimique si elle est peu présente en phase liquide alors que sa pression partielle au-dessus du liquide est élevée. Le dépôt de cette espèce en phase liquide est alors possible jusqu'à un certain point correspondant à l'équilibre

entre sa concentration de chaque côté de l'interface. La convection forcée du liquide peut permettre aux espèces fraîchement déposées en son sein de se mélanger dans le liquide, abaissant dans ce cas localement à sa surface la concentration de l'espèce considérée. D'où une nouvelle tendance de retour à l'équilibre chimique, en continuant le transfert de l'espèce en phase liquide par la loi de Henry. Des modèles sont actuellement à l'étude pour mieux comprendre les principales réactions de pénétration des RONS en phase liquide [201]–[204]. En particulier, *Tian et al.* [203] ont montré que l'évaporation du liquide pendant son traitement par le plasma est un des mécanismes principaux dans la production de peroxyde d'hydrogène et de radicaux OH en phase gazeuse. De plus, l'exploitation d'un modèle numérique faisant état du phénomène de convection du liquide par le plasma [204], en bonne corrélation avec les résultats issus de travaux expérimentaux [205], montre une évolution temporelle du dépôt d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> similaire au dépôt des RONS en phase liquide que l'on observe sur la Figure 84 (dépôt en surface puis dans tout le volume du liquide).

## 4.2. Mesure de la concentration des RONS

La solution contenant de l'amidon et du KI permet de suivre la distribution spatio-temporelle de certains RONS générés par le jet de plasma se déposant dans le liquide. Toutefois elle ne permet pas de distinguer quels RONS initient la formation du complexe amidon/KI. Pour cela, il est nécessaire d'utiliser des techniques sensibles à des espèces spécifiques afin de mesurer leur concentration.

Le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), les nitrites (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) et les nitrates (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) sont parmi les espèces à longues durées de vie les plus oxydantes que le jet de plasma est capable de créer et d'apporter à la cible liquide. Ils représentent des acteurs importants dans les propriétés réactives attribuées aux plasmas froids à la pression atmosphérique [73], [74], [159], [206], [207]. Les mécanismes réactionnels menant à leur formation peuvent varier selon la variété des espèces initialement présentes dans le jet de plasma, il en existe une multitude [208], [209] et font encore aujourd'hui l'objet de recherches plus poussées. Mesurer la concentration de ces trois RONS en phase liquide est primordial pour mieux comprendre les effets chimiques du jet de plasma sur le liquide traité.

La Figure 85 représente les concentrations d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en phase liquide avec les deux sources, pour différents temps d'exposition de la cible.

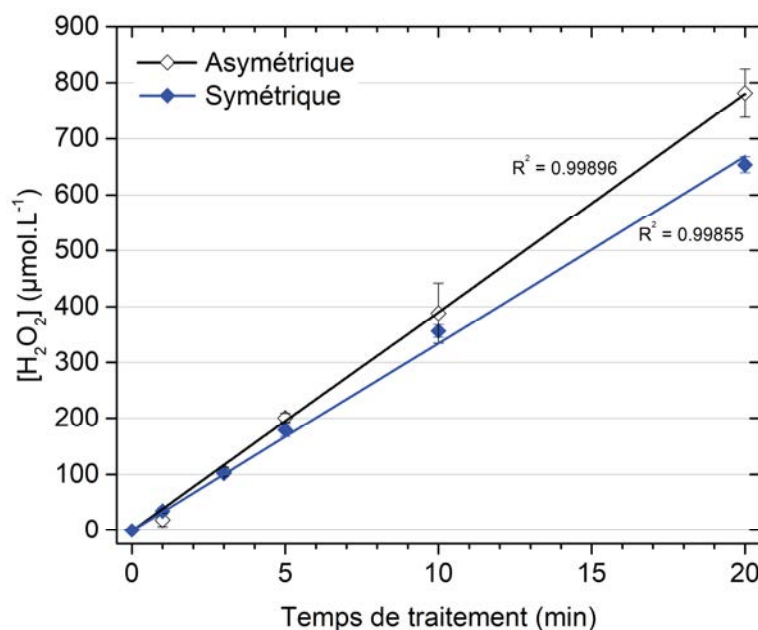


Figure 85 : Effets du temps de traitement et de la géométrie de la source sur la concentration en  $H_2O_2$  en phase liquide.

La formation des  $H_2O_2$  s'explique par la vapeur d'eau libérée par le liquide sous le jet de plasma. La vapeur d'eau, en contact avec des espèces comme des électrons, se décompose en radicaux hydroxyles. Ces radicaux sont ensuite capables de se recombinaison entre eux pour former du peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante [73], [74] :



La recombinaison des radicaux hydroxyles a lieu principalement à l'interface gaz/liquide [73]. Les peroxydes d'hydrogène qui en résultent sont ensuite transportés dans le liquide.

La Figure 85 montre une production linéaire de cette espèce en fonction du temps de traitement quelle que soit la source utilisée, d'après les coefficients de corrélations indiqués pour chaque source. Un temps de traitement de 20 minutes est nécessaire pour observer une différence significative entre les deux sources, dans ce cas on mesure une différence de 130  $\mu M$  entre les deux sources (soit un écart relatif de 17%). La différence dans la production des  $H_2O_2$  observée entre les deux sources se situe là-aussi au niveau de la présence du réservoir de la source asymétrique. Ce réservoir semble en effet être le siège de réactions chimiques différentes par rapport au cas de la source symétrique, comme le gaz y est retenu plus longtemps. De plus, l'éloignement des parois de la source permet aux électrons de provoquer un plus grand nombre de chocs efficaces avec d'autres espèces (telles que He,  $O_2$  ou encore  $N_2$ ), plutôt que de se recombinaison aux parois de la source et ainsi perdre leur énergie [210]. La densité des espèces réactives en phase gazeuse aurait donc tendance à être renforcée dans la source asymétrique.



Les concentrations en  $\text{NO}_2^-$  et en  $\text{NO}_3^-$  sont présentées sur la Figure 86 et montrent des évolutions complètement différentes de celles des  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

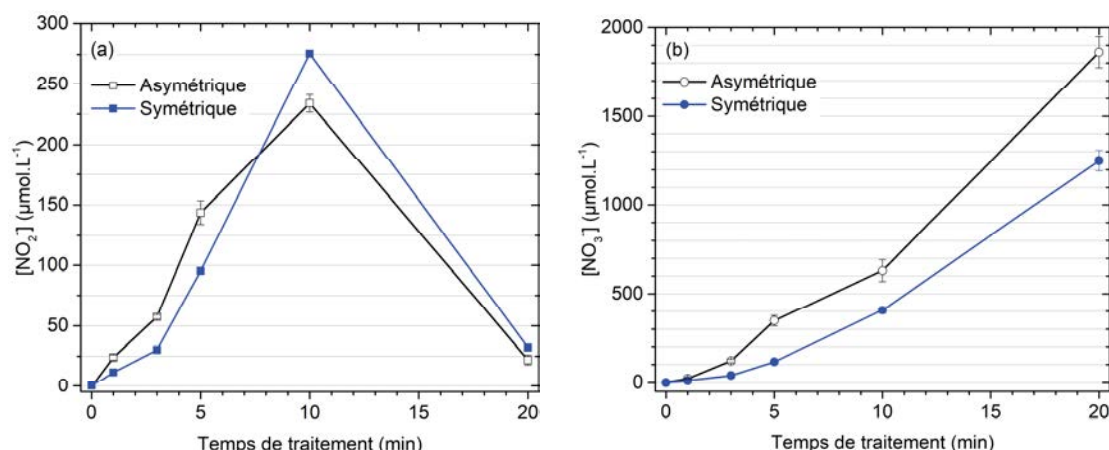
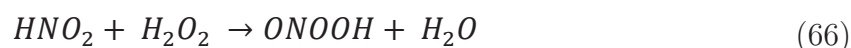


Figure 86 : Effets du temps de traitement et de la géométrie de la source sur la concentration en a)  $\text{NO}_2^-$  et en b)  $\text{NO}_3^-$  en phase liquide.

Le comportement des concentrations de ces deux espèces en phase liquide est le même entre les deux sources. Ces concentrations ont tendance à augmenter linéairement durant les 10 premières minutes. A partir de ce temps, deux comportements opposés sont observés : la concentration en nitrite diminue fortement, tandis que la concentration en nitrate augmente plus rapidement que la production linéaire initiale le laissait supposer. Le plasma généré dans la source asymétrique correspond à celui qui fournit les concentrations les plus élevées en  $\text{NO}_3^-$  pour tous les temps d'exposition. A l'inverse, après 10 minutes de traitement, la concentration en  $\text{NO}_2^-$  générée en phase liquide avec la source asymétrique devient plus faible que celle générée avec l'autre source. L'explication la plus probable repose sur la transformation des nitrites en nitrates lorsque le pH du milieu devient acide [73]. En effet, l'étude de la formation de peroxyxynitrite dans l'eau lors de son traitement par une décharge de plasma dans l'air a montré l'importance de la réaction suivante expliquant, au moins en post-décharge, la conversion des nitrites en nitrates [73] :



Le pH du liquide conditionne donc la force de cette réaction chimique, de même que la concentration en  $\text{H}_2\text{O}_2$  (relativement élevée après 10 minutes de traitement, comme l'indique la Figure 85).

Pour s'assurer que cette réaction chimique peut avoir lieu, le pH est mesuré. C'est l'objet de la Figure 87 montrant l'évolution du pH en fonction du temps de traitement et de la géométrie de la source.

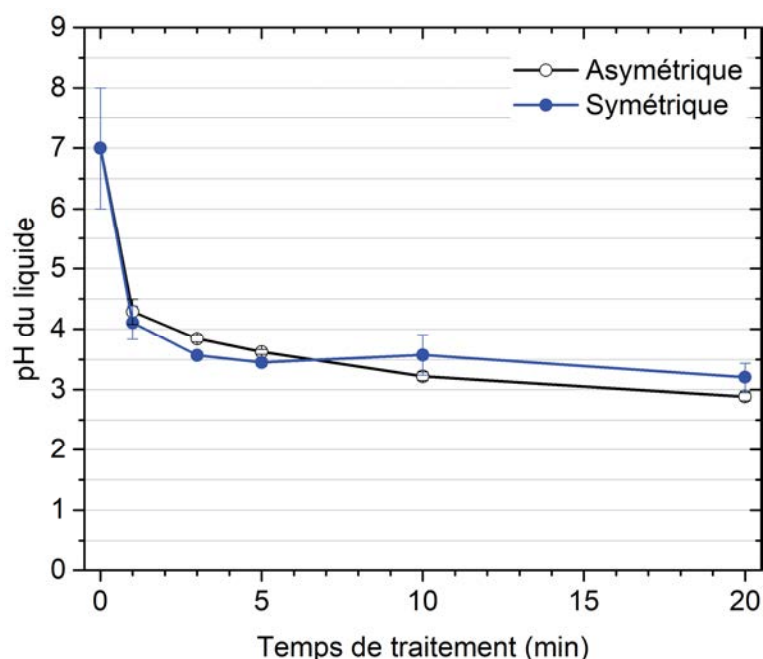


Figure 87 : Effets du temps de traitement et de la géométrie de la source sur le pH de la cible liquide.

La mesure du pH à 0 minute correspond au pH de l'eau ultra-pure non traitée (à ce stade elle ne contient quasiment aucun ion), c'est-à-dire à sa sortie du générateur d'eau ultra-pure. Malgré sa faible teneur en ions, il est d'usage de considérer son pH égal à 7, à une unité près.

Le type de source ne semble pas important dans le processus d'acidification du liquide. Traiter le liquide pendant 5 minutes permet de diminuer son pH jusqu'à 4 pour les deux sources. Après 20 minutes de traitement, le pH atteint 3. Cette baisse rapide est typique d'un liquide non tamponné comme de l'eau ultra-pure ou l'eau déionisée [207]. Dans ces conditions, la majeure partie de l'acidité du liquide provient du dépôt des ions nitrite et nitrate sous la forme d'acide nitreux ( $\text{HNO}_2$ ) et d'acide nitrique ( $\text{HNO}_3$ ) respectivement [74]. L'action du dioxyde de carbone de l'air est également responsable de la baisse du pH lors de sa dissolution dans le liquide [206]. Comme le pH est identique entre les deux sources, nous pourrions supposer que la formation des nitrites est renforcée dans la source asymétrique, tout comme la formation des peroxydes d'hydrogène, ce qui favoriserait la conversion des nitrites en nitrates. Il faut cependant noter que dans [73], la réaction (66) est validée uniquement au cours de la post-décharge. Dans notre cas, le traitement par le plasma est actif pendant que la conversion des nitrites et des nitrates est relevée. On ne peut donc pas affirmer que seule cette réaction se produit comme d'autres espèces sont continuellement apportées par le jet de plasma. Il y a toujours une compétition entre la création d'espèces due au traitement par le plasma en cours, ainsi que la destruction



de ces espèces par d'autres processus chimiques, impliquant les produits créés par le plasma. L'interprétation des résultats est donc difficile et délicate à effectuer.

Afin de révéler les différences, en termes de mécanismes réactionnels à l'origine de la création et/ou de la destruction des nitrites et des nitrates, il est intéressant de comparer la proportion des nitrates par rapport aux nitrites, en un temps donné. C'est l'objet du Tableau 12 qui se focalise sur les parties des courbes quasi-linéaires de la concentration des  $\text{NO}_x$  pour chacune des sources de la Figure 86, c'est-à-dire entre 1 et 5 min.

*Tableau 12 : Proportion des nitrates par rapport aux nitrites en un temps donné (1, 3 et 5 min) pour chacune des deux sources. Les concentrations sont données en  $\mu\text{M}$ .*

		Temps (min)	1	3	5
Source asymétrique	$[\text{NO}_2^-]$		24.0	57.3	143.6
	$[\text{NO}_3^-]$		21.2	120.5	347.4
	Ratio $[\text{NO}_3^-]/[\text{NO}_2^-]$		0.88	2.10	2.42
Source symétrique	$[\text{NO}_2^-]$		11.9	30.2	95.4
	$[\text{NO}_3^-]$		10.8	38.8	115.4
	Ratio $[\text{NO}_3^-]/[\text{NO}_2^-]$		0.91	1.28	1.21

Pour la source asymétrique, le rapport de ces concentrations augmente jusqu'à un facteur égal à 2,42 en 5 minutes. Cela signifie que pour un ion nitrite créé, deux à trois ions nitrates sont produits. A l'inverse, ce rapport est proche de 1 pour la source symétrique. Cela prouve que la conversion des  $\text{NO}_2^-$  en  $\text{NO}_3^-$  ne s'effectue pas de la même manière selon le type de source utilisée. Les mécanismes réactionnels conduisant à la formation et à la destruction des espèces réactives, à la fois en phase gazeuse et en phase liquide, sont différents selon la géométrie de la source étudiée.

## 5. Mécanismes de dégradation d'une molécule complexe : le bleu de méthylène

Les colorants sont des composés qui absorbent la lumière dans le domaine du visible, leurs couleurs sont donc très variées. Cette particularité ainsi que leur stabilité chimique, couplée à leur facilité de synthèse, les rendent abondamment utilisés dans le domaine du textile où la production ne cesse d'augmenter d'année en année. Il s'avère qu'environ 15% des colorants sont perdus pendant le processus d'absorption du matériau à teindre [7]. Ces colorants non traités se retrouvent alors dans les eaux usées qui peuvent avoir un impact significatif sur la faune et la flore aquatique, de par leurs dangers si ingérées, mais aussi parce que le colorant absorbe une partie de la lumière du soleil, entraînant de ce fait une plus faible croissance des plantes aquatiques.

La stabilité de ces colorants en fait des composés difficiles à détruire d'où l'intérêt d'utiliser des techniques spécialisées dans ce type de dégradation. Actuellement il existe de nombreuses techniques permettant de dégrader les colorants présents dans les eaux usées : nanofiltration [211], photodégradation [7], [212], oxydation [213], traitement biologique [214] et adsorption [215] entre autres. Ces techniques sont encore au stade de développement comme leur efficacité de dégradation n'est pas encore optimale. Les plasmas froids peuvent donc représenter un moyen de dégrader ces molécules complexes [216].

Le bleu de méthylène a été utilisé en tant que modèle de contaminant complexe pour étudier les capacités oxydantes du jet de plasma. Plusieurs types de traitements ont été réalisés pour supprimer l'influence de certains agents oxydants apportés par le plasma sur la dégradation du bleu de méthylène. La Figure 88 montre l'évolution de cette dégradation en fonction du temps de traitement et de la géométrie de la source. Deux cas sont à distinguer :

- le traitement de la cible est « direct » lorsque la cible est de l'eau ultra-pure ou de l'eau du robinet contenant le bleu de méthylène ;
- le traitement peut être « indirect », on parle d'eau activée par plasma (Plasma Activated Water ou PAW). L'eau ultra-pure, sans le bleu de méthylène, est utilisée dans ce cas. L'eau activée consiste à traiter pendant une durée allant de 1 à 20 minutes une cible liquide de 11 mL (1 mL de moins qu'un traitement direct) ne contenant pas de bleu de méthylène. A la fin du traitement, 1 mL de bleu de méthylène est ajouté au liquide traité de manière à ce que la concentration finale du bleu de méthylène en solution soit égale à 12.5  $\mu\text{M}$ . Le mélange est ensuite laissé à température ambiante pendant une durée égale au temps de traitement (de 1 à 20 minutes).

L'eau du robinet est, quant à elle, une bonne solution tamponnée en pH car elle contient une grosse quantité d'ions bicarbonates ( $\text{HCO}_3^-$ ) possédant un double caractère acido-basique. En utilisant de l'eau du robinet, l'effet du pH acide sur la dégradation du bleu de méthylène est supprimé. Le choix de cette eau plutôt qu'un tampon phosphate salin tel que le PBS, est justifié par l'application finale de toute cette étude : l'idée est en effet de dépolluer de l'eau du robinet par exemple.

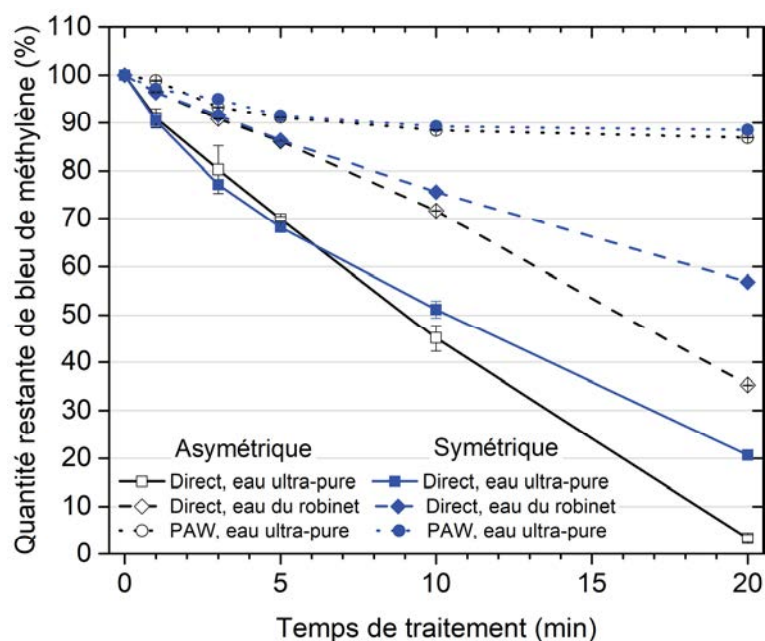


Figure 88 : Effets du temps de traitement et de la géométrie de la source sur la concentration du bleu de méthylène dilué avec de l'eau ultra-pure ou de l'eau du robinet (traitement direct), ou après être mis en contact avec de l'eau ultra-pure traitée par plasma pendant un temps correspondant à la durée du traitement de l'eau (traitement indirect ou PAW).

Les propriétés oxydantes des espèces réactives à longue durée de vie comme le peroxyde d'hydrogène, assistées par des espèces à courte durée de vie comme les radicaux hydroxyles, sur le bleu de méthylène sont ainsi mis en évidence indépendamment grâce à ces différents traitements. L'utilisation de l'eau du robinet permet de conserver uniquement les effets des espèces de courte et de longue durée de vie, sans les effets liés au pH. Le PAW avec de l'eau ultra-pure permet de s'affranchir des espèces à courtes durée de vie. Le traitement direct du mélange contenant de l'eau ultra-pure est quant à lui utile pour laisser tous les agents oxydants sans contrainte dans le liquide.

Lors du traitement direct du bleu de méthylène dans l'eau ultra-pure pendant 20 minutes, la dégradation du colorant atteint 97% avec la source asymétrique alors qu'elle n'atteint que 79% lorsque la source symétrique est utilisée. Dans ce cas, les espèces à longue et courte durée de vie, ainsi que le pH, agissent sur le bleu de méthylène.

Le pH de la solution a un rôle important dans la dégradation du bleu de méthylène [217]. En se basant sur les concentrations des RONS apparaissant sur les Figure 85 et Figure 86, le plasma généré par la source asymétrique crée et/ou dépose plus de RONS en phase liquide que la source symétrique. En conséquence, la dégradation du bleu de méthylène est renforcée avec l'utilisation de la source asymétrique. De plus, si le pH acide joue un rôle majeur dans la dégradation du bleu de méthylène par dégradation

photocatalytique [7], il semble également jouer un rôle important dans le cas du traitement par le jet de plasma. Or, comme le pH est identique à un temps donné quelle que soit la source utilisée, comme l'indique la Figure 87, et comme des différences de dégradation apparaissent entre les deux sources, cela signifie que le pH n'agit pas seul sur la dégradation du polluant. L'utilisation de l'eau du robinet montre en effet l'importance de la quantité de RONS produit en phase liquide : le plasma de la source asymétrique permet de dégrader plus facilement le bleu de méthylène par rapport à l'autre plasma (75% de dégradation à 20 minutes pour la source asymétrique, contre 42% avec la source symétrique). L'écart observé entre les traitements de l'eau du robinet et de l'eau ultra-pure peut donc s'expliquer par l'annulation de l'effet du pH sur le colorant, soulignant l'importance d'avoir un pH acide pour favoriser la dégradation du bleu de méthylène. Dans le cas de l'eau du robinet, le pH varie très légèrement autour d'une valeur centrale égale à 7.5 quel que soit le temps de traitement ou la source utilisée.

Cependant, il faut noter que le changement du liquide dans lequel le bleu de méthylène est dilué engendre un changement de production d'espèces réactives en phase liquide, en particulier sur les espèces à longue durée de vie. La Figure 89 présente les concentrations des  $H_2O_2$ ,  $NO_2^-$  et  $NO_3^-$  lors de l'utilisation de l'eau ultra-pure ou d'eau du robinet. Seule la source asymétrique est représentée ici.

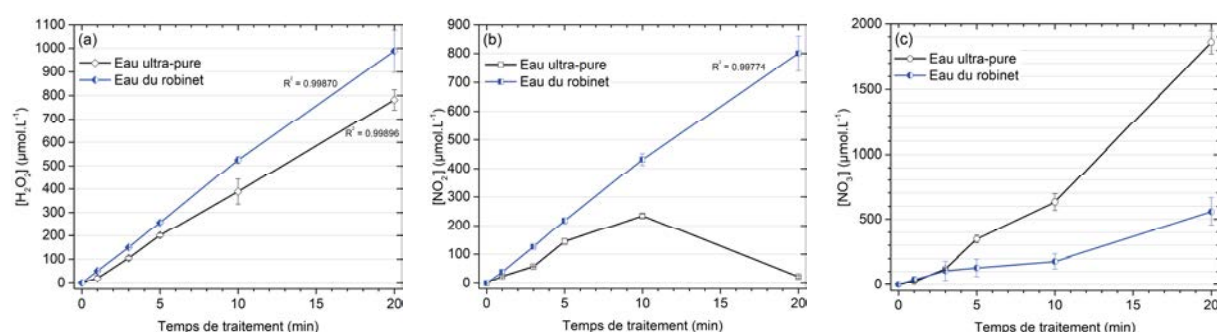


Figure 89 : Effet du temps de traitement sur la concentration a) en  $H_2O_2$ , b) en  $NO_2^-$  et c) en  $NO_3^-$  en phase liquide avec la source asymétrique, dans le cas de l'utilisation d'eau ultra-pure et d'eau du robinet.

La concentration en peroxyde d'hydrogène est légèrement plus élevée avec l'eau du robinet (écart relatif de 21% à 20 minutes). Les nitrites et les nitrates semblent nettement plus dépendants de la nature de l'eau. La neutralisation du pH permet d'éviter la conversion des nitrites en nitrates (66) dans l'eau du robinet. Ces deux concentrations augmentent linéairement avec le temps de traitement, sans faire apparaître de baisse ou de hausse abrupte comme nous pouvons l'observer avec de l'eau ultra-pure. Le changement de la concentration de ces trois espèces peut influencer la dégradation du colorant. Cependant, malgré la plus grande concentration des nitrites et du peroxyde d'hydrogène dans l'eau du robinet, le bleu de méthylène ne se dégrade pas plus facilement.

Le pH acide semble donc être une condition importante dans la dégradation du colorant car les espèces à longues durées de vie (même si elles sont renforcées par l'utilisation de l'eau du robinet) agissent moins efficacement sur le bleu de méthylène dans un pH neutre.

L'étude de l'eau ultra-pure activée par plasma, représentée sur la Figure 88, met en évidence le rôle des espèces à courte durée de vie dans le processus de dégradation du bleu de méthylène. La littérature indique que la principale espèce qui semble être impliquée dans la dégradation de ce colorant est le radical hydroxyle [216], [218]. En particulier, *Abhilasha et al.* [218] ont montré que l'ajout d'isopropanol, capable de désactiver les radicaux hydroxyles, induit une plus grande difficulté de dégradation du bleu de méthylène. La Figure 88 confirme l'importance des espèces à courte durée de vie puisque seulement 12% du bleu de méthylène est dégradé dans les conditions les plus extrêmes (source asymétrique et 20 minutes de traitement) avec l'eau activée par plasma. En comparaison dans les mêmes conditions, la dégradation du bleu de méthylène est de 97% dans l'eau ultra-pure en traitement direct. Le traitement indirect ainsi que l'utilisation d'une eau tamponnée en pH, suggèrent donc que la combinaison entre le pH acide de la solution ainsi que les espèces à courte durée de vie ont un rôle majeur dans la dégradation du colorant. Les espèces à longue durée de vie ont quant à elles une importance plus modérée en regard de ces deux autres agents oxydants.

## 6. Conclusion

Le rôle important de la géométrie de la source dans la production de RONS en phase liquide a été mis en évidence en évaluant la concentration de plusieurs espèces réactives. Le plasma généré dans la source asymétrique est capable de fournir des concentrations plus élevées en  $\text{H}_2\text{O}_2$  et en  $\text{NO}_3^-$  en phase liquide que le plasma de la source symétrique. La concentration des  $\text{NO}_2^-$  semble quant à elle peu dépendante de la source utilisée : dans chaque cas le maximum de production apparaît à 10 minutes lors de l'utilisation d'eau ultra-pure, avant de diminuer brutalement. La conversion des nitrites en nitrates sous un pH acide semble, au moins en partie, expliquer la tendance particulière que possède la concentration des nitrites en fonction du temps. Les différences de concentrations de RONS que l'on peut observer entre les deux sources peuvent s'expliquer par la plus grande production d' $\text{He}^M$  en phase gazeuse, permettant une plus grande production d'espèces réactives dans cette même phase, suivie par leur dépôt en phase liquide. Dans ce cas, la source asymétrique est la plus apte à apporter une plus grande concentration de RONS en phase liquide. L'étude de la dégradation d'un polluant de l'eau relativement complexe, tel que le bleu de méthylène, a permis de montrer que la production plus élevée des RONS (donc avec la source asymétrique) entraîne une dégradation du colorant plus importante. La séparation des contributions des espèces à longue durée de vie, des espèces

à courte durée de vie, ou encore du pH, grâce à l'utilisation d'eau activée par plasma et d'eau tamponnée en pH (eau du robinet), a montré que la combinaison entre les espèces à courte durée de vie et le pH sont les principaux acteurs associés à la dégradation du bleu de méthylène. Les espèces à longue durée de vie ayant un rôle mineur.





## Chapitre 5 – Mécanismes de défense et d'inactivation des bactéries après leur traitement par plasma

## 1. Introduction

Les jets de plasmas froids ont prouvé par le passé leur faculté à induire des effets létaux sur les microorganismes, grâce au dépôt de RONS en phase liquide. Plusieurs types de décontaminations ont alors émergé, notamment la décontamination de liquide. La présence d'une interface séparant le plasma des bactéries rend l'étude et l'interprétation des mécanismes de décontamination complexes. En effet, la façon dont les inactivations bactériennes opèrent est encore mal comprise, comme les agents oxydants apportés par le plasma interagissent avec le liquide avant d'interagir avec les bactéries.

Afin de mieux comprendre les mécanismes régissant le traitement des bactéries contenues dans le liquide par le plasma, plusieurs problématiques sont mises en avant dans ce chapitre :

- quelle est l'influence de la géométrie de la source plasma sur l'inactivation des *E. coli* ?
- quelle est l'influence des paramètres extérieurs au traitement par le jet de plasma (nature du liquide, phase dans laquelle les bactéries sont cultivées) sur cette inactivation ?
- quel est l'effet du traitement par plasma sur l'intégrité membranaire des bactéries ?
- est-ce que l'exposition des bactéries au plasma provoque des lésions sous-létales et modifie leur mécanisme de défense ?

## 2. Impact du jet de plasma sur la survie bactérienne

### 2.1. Influence de la géométrie de la source plasma

Les deux sources plasma (asymétrique et symétrique) ont été utilisées afin de déterminer celle qui offre la plus grande efficacité biocide, par l'étude de la survie bactérienne sur gélose TSA. Ces deux courbes de survie sont représentées sur la Figure 90. Les bactéries sont issues de la phase stationnaire (15 heures).

Le jet de plasma issu de la source asymétrique est le plus efficace pour réduire le nombre de bactéries capables de se multiplier sur la gélose TSA. Après 20 minutes de traitement, presque 3 logarithmes de différence sont observés entre les deux survies obtenues avec les plasmas issus des deux sources. Ces différences peuvent s'expliquer par le renforcement de la cascade de réactions chimiques ayant lieu dans le plasma issu de la source asymétrique.

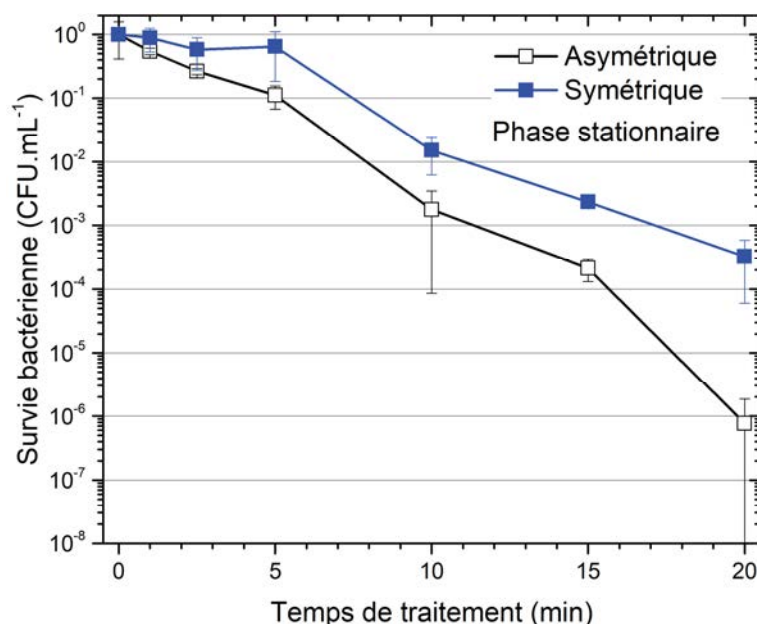


Figure 90 : Survies des bactéries en phase stationnaire en fonction de la géométrie de la source (asymétrique ou symétrique), révélées par l'utilisation de gélose TSA.

En effet, comme nous avons pu le montrer dans les chapitres précédents, le renforcement de la densité des He<sup>M</sup> en phase gazeuse avec l'utilisation de la source asymétrique induit la formation d'espèces excitées et réactives de l'air supplémentaires, d'où un dépôt d'espèces réactives en phase liquide plus élevé par rapport à la source symétrique. Ainsi, l'efficacité biocide est améliorée avec l'utilisation de la source asymétrique.

L'effet du pH de la solution saline n'est pas l'unique contributeur de la décontamination bactérienne, comme le montre la Figure 91 où le pH des liquides traités par les deux jets issus des deux sources est mesuré. Les valeurs de pH de la solution saline sont très similaires à celles obtenues dans l'eau ultra-pure (chapitre 4), comme la solution saline est fabriquée avec de l'eau ultra-pure. Le pH du liquide ne dépend pas de la source utilisée, ce qui permet d'affirmer que le caractère biocide renforcé du jet de plasma issu de la source asymétrique provient des autres agents oxydants fournis par le plasma, tels que les RONS. Nous avons effectivement mesuré dans le chapitre 4 que la concentration des trois RONS (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup> et NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) en phase liquide était plus élevée lors des traitements impliquant la source asymétrique. Même si les mécanismes réactionnels régissant l'action de ces agents oxydants sur les bactéries ne sont pas élucidés, l'optimisation de la production des RONS constitue l'un des facteurs primordiaux sur l'inactivation bactérienne. Le renforcement de la production des RONS avec la source asymétrique pourrait donc être en grande partie responsable de la plus grande inactivation bactérienne mesurée.

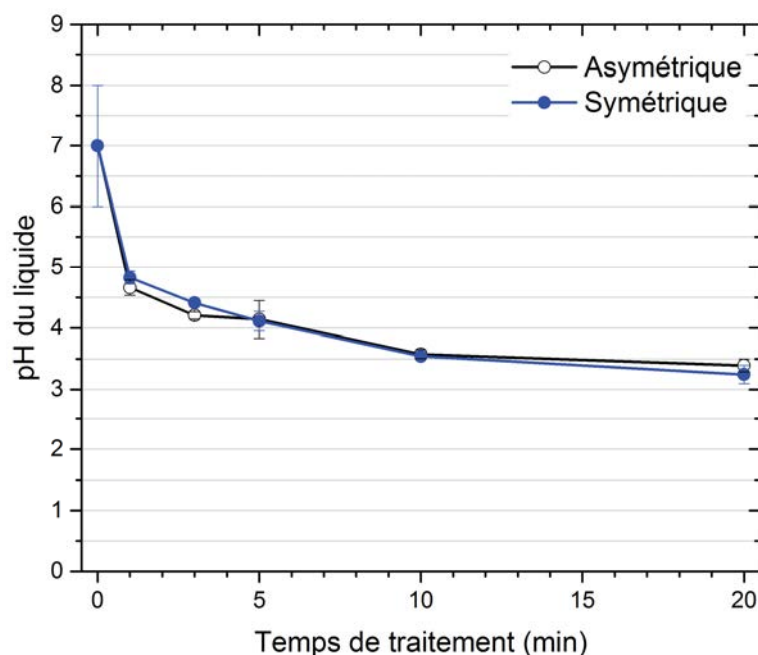


Figure 91 : pH de la solution saline traitée par les deux types de jet de plasma.

Comme le jet de plasma issu de la source asymétrique est celui ayant le plus de facilité à réduire le nombre de bactéries capable de former des colonies sur de la gélose TSA, seule la source asymétrique est conservée dans toute la suite de ce travail.

## 2.2. Influence de la nature du liquide

L'utilisation d'une solution tampon telle que le PBS permet de s'affranchir de l'effet du pH ainsi que d'une partie des effets oxydants provoqués par les RONS sur les bactéries du liquide. La Figure 92 met en avant les survies bactériennes obtenues sur géloses TSA, lors de l'utilisation de PBS ou de solution saline. Les bactéries sont issues de la phase stationnaire (15 heures).

Après 20 minutes de traitement, la survie bactérienne a diminué de seulement 80% dans du PBS, contre plus de 6 logarithmes ( $> 99.9999\%$ ) avec la solution saline. L'effet tamponné en pH associé au PBS est suffisamment fort pour protéger les bactéries d'une partie des agents oxydants du plasma [219]. En effet, le pH de cette solution, initialement égal à 7.6, atteint 7.2 après 20 minutes de traitement par plasma. Dans ces conditions, les bactéries sont traitées dans un environnement où le pH est constamment neutre, quel que soit le temps de traitement.

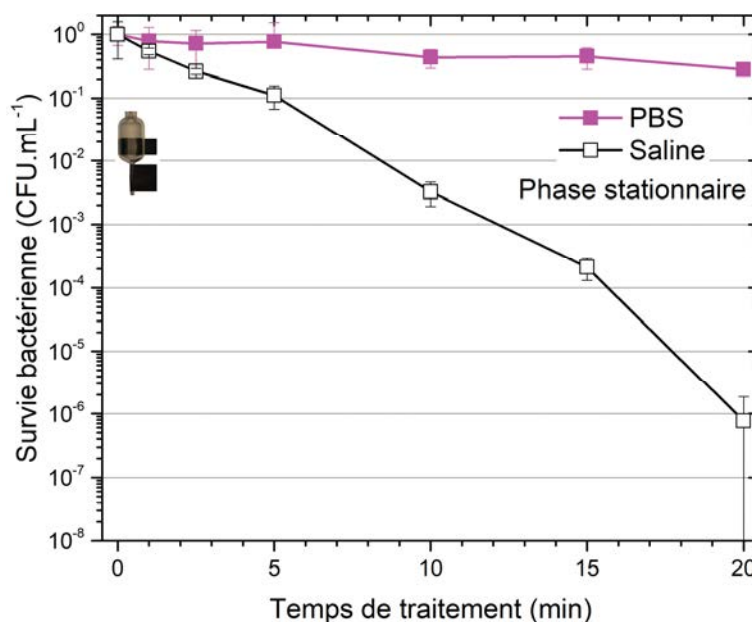


Figure 92 : Survies des bactéries en phase stationnaire en fonction de la nature du liquide traité (saline ou PBS) révélées par l'utilisation de gélose TSA.

L'effet du pH sur la dégradation d'un autre polluant de l'eau a déjà été observé plus tôt dans cette étude, il s'agit du bleu de méthylène contenu dans de l'eau du robinet (également tamponnée en pH). Il a ainsi été montré qu'un pH neutre ne permet pas d'atteindre une dégradation du colorant aussi élevée que dans l'eau ultra-pure, là où le pH devient rapidement acide avec l'augmentation du temps de traitement. Ainsi, un pH acide pourrait permettre de favoriser la présence de certaines espèces réactives stables sous un pH acide, capables de dégrader plus efficacement le polluant de l'eau. Un phénomène similaire est probablement observé dans le cas des traitements des bactéries dans du PBS. En utilisant cette solution, la contribution des agents oxydants stables sous un pH neutre ne permet pas d'atteindre l'inactivation bactérienne mesurée dans le cas où les espèces sont stables sous un pH acide (solution saline). Ainsi, les espèces réactives stables à pH acide doivent être favorisées afin d'optimiser la décontamination de la cible liquide.

Plusieurs travaux font état de l'importance de l'acidité du pH de la solution sur la décontamination bactérienne [220], [221]. Dans ces travaux, dès que le pH du liquide traité contenant les bactéries devient inférieur à 4.5 [220] ou à 4.7 [221], la survie bactérienne est drastiquement diminuée. La raison invoquée permettant d'expliquer l'effet du pH acide sur la survie bactérienne repose sur la présence renforcée du radical hydroperoxyl ( $\text{HOO}^\bullet$ ) plutôt que de l'anion superoxyde ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) dans le liquide. En effet, le pKa associé à ce couple acide/base est égal à 4.88 [222], ce qui est supérieur aux valeurs de pH (4.5 ou 4.7) relevées par les auteurs. Selon eux, les radicaux  $\text{HOO}^\bullet$  pourraient provoquer l'augmentation du phénomène de peroxydation des lipides membranaires des

bactéries, diminuant la survie de ces dernières, en comparaison avec les radicaux  $O_2^{\bullet-}$ . Il faut cependant noter que les efficacités bactéricides des radicaux  $HOO^{\bullet}$  et  $O_2^{\bullet-}$  n'ont pas été comparées dans ces travaux. Cependant, les travaux de simulation de *Cordeiro* [223] prouvent que ces deux composées n'ont pas la même affinité avec les lipides membranaires des cellules. Les radicaux  $HOO^{\bullet}$  sont en effet capables de pénétrer dans la membrane externe des cellules plus facilement que les  $O_2^{\bullet-}$ . Cela implique une probabilité bien supérieure (5 ordres de grandeur) que la réaction de  $HOO^{\bullet}$  avec les chaînes hydrocarbonées des membranes survienne, en comparaison avec les anions radicalaires  $O_2^{\bullet-}$ . Ainsi, le phénomène de peroxydation des lipides amenant à la mort cellulaire pourrait se renforcer sous un pH acide grâce à la prédominance de  $HOO^{\bullet}$  sur  $O_2^{\bullet-}$ . C'est probablement ce qui est observé dans notre cas suite à la plus faible survie mesurée dans la solution saline, plutôt que dans le PBS.

En conséquence, dans toute la suite de l'étude, la décontamination des bactéries se poursuivra avec l'utilisation de solution saline. En effet, en retirant l'effet tamponné en pH du liquide, les bactéries subiront plus de dégâts ce qui nous permettra de maximiser les chances d'observer la façon avec laquelle elles réagissent face aux agents oxydants générés par le plasma.

### 2.3. Influence du temps d'exposition

La cinétique d'inactivation des bactéries peut nous donner une information importante sur la façon dont les bactéries sont désactivées au cours du temps. Dans cette partie, l'ajustement de la survie bactérienne de la phase stationnaire après le traitement par le plasma est réalisé à l'aide de deux modèles mathématiques : Chick et Geeraerd. Le premier fait état d'une inactivation linéaire des bactéries en fonction du temps [168], tandis que le second prend en compte une inactivation plus lente durant les premiers instants du traitement, avant de suivre le modèle de Chick [166].

La Figure 93 rappelle la survie bactérienne obtenue avec le plasma de la source asymétrique mesurée sur gélose TSA, ajustée avec les modèles de Chick et de Geeraerd. Les bactéries sont issues de la phase stationnaire (15 heures).

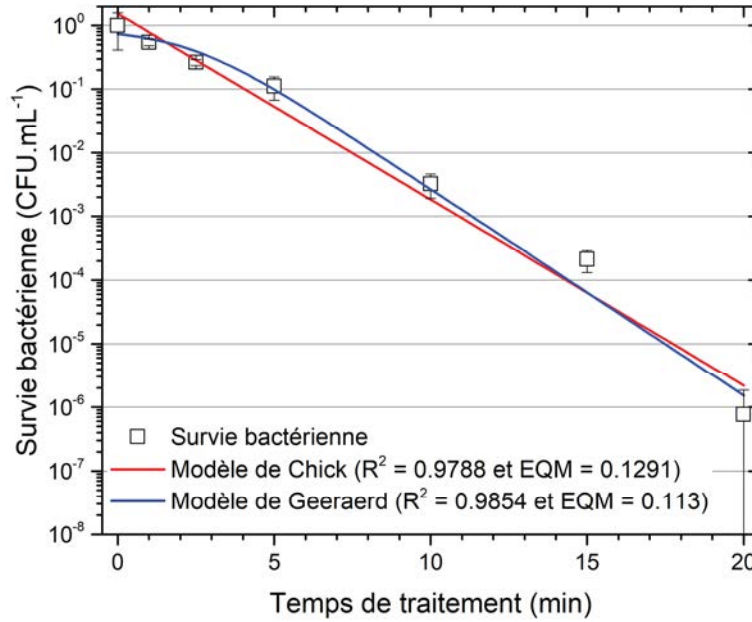


Figure 93 : Survie des bactéries en phase stationnaire révélée par l'utilisation de gélose TSA, après exposition au plasma. Les modèles de Chick et de Geeraerd sont ajustés à cette survie.  $R^2$  correspond au coefficient de corrélation et EQM à l'erreur quadratique moyenne, tous deux associés à chacun des modèles.

La cinétique d'inactivation est ici plus complexe que ce que propose le modèle linéaire de Chick comme la survie fait apparaître deux phases. En effet, un coude apparaît au niveau des survies bactériennes pour des temps de traitement courts (jusqu'à 5 minutes), avant que les survies ne suivent une cinétique d'inactivation exponentielle décroissante. Le modèle de Geeraerd est le plus adapté pour décrire cette survie comme ses coefficients  $R^2$  et EQM sont respectivement les plus proches de 1 et de 0.

L'expression de l'équation d'inactivation des bactéries donnée par le modèle de Geeraerd est la suivante :

$$\frac{dN}{dt} = -k_{max} \cdot N \cdot \left( \frac{1}{1 + C_c} \right) \cdot \left( 1 - \frac{N_{res}}{N} \right) \quad (67)$$

Où  $N$  représente la concentration des bactéries (CFU.mL<sup>-1</sup>),  $k_{max}$  la constante d'inactivation du premier ordre (s<sup>-1</sup>),  $C_c$  l'état physiologique des bactéries, et  $N_{res}$  la concentration de la population résiduelle des bactéries (CFU.mL<sup>-1</sup>).

Le premier terme «  $k_{max} \cdot N$  » du membre de droite de l'équation (67) correspond à la partie exponentielle décroissante de la courbe de survie, telle que stipulée par le modèle de Chick.



Le second terme du membre de droite de l'équation (67) «  $\left(\frac{1}{1+c_c}\right)$  » prend en compte le coude apparaissant au début de la courbe de survie (< 5 minutes). La présence de ce coude peut avoir plusieurs origines :

- les bactéries peuvent former des agrégats, dont la culture sur gélose ne montrera qu'une seule colonie. La durée du coude représente le temps nécessaire à l'inactivation de toutes les bactéries de l'agrégat, excepté une seule [224] ;
- pendant le traitement, les bactéries peuvent synthétiser un composé vital leur permettant de survivre un certain temps. La fin du coude correspond à un taux de décontamination supérieur à la synthèse de ce composé vital [225] ;
- les protéines dans le milieu traité peuvent engendrer une augmentation de la résistance à la température. De plus, elles permettraient de stabiliser la membrane ou d'avoir un effet tampon sur les faibles valeurs de pH afin de protéger les bactéries [224] ;
- un temps peut être nécessaire pour que les molécules critiques à la survie des bactéries soient atteintes par les agents oxydants du plasma. Dans ce cas, les dommages s'accumulent jusqu'à ce qu'ils deviennent létaux [169] ;
- l'homogénéisation des agents oxydants dans le liquide peut prendre un certain temps comme le liquide n'est pas remué en permanence. Certaines bactéries sont donc exposées à de plus grande concentration de RONS par rapport à d'autres [226], [227].

Dans notre cas, la cinquième raison est la plus probable sachant que nous avons pu observer, avec l'utilisation d'une solution d'iodure de potassium et d'amidon dans le chapitre 4, la propagation spatio-temporelle des RONS dans le liquide. Pour rappel, trois minutes sont nécessaires pour que les RONS apportés par le plasma atteignent l'ensemble du liquide. Cela signifie que, malgré la répartition homogène initiale des bactéries dans le liquide, seules les bactéries localisées à la surface du liquide vont subir les effets oxydants du plasma durant les premiers instants du traitement. Comme l'indique la Figure 93, le temps nécessaire à ce que toutes les bactéries soient entourées de la même quantité d'espèces réactives pourrait être de 5 minutes. Au-delà, les RONS sont suffisamment homogénéisés dans le liquide pour que la décroissance bactérienne suive une loi exponentielle classique.

Le dernier terme du membre de droite de l'équation (67) «  $\left(1 - \frac{N_{res}}{N}\right)$  » témoigne de la possible présence d'une population de bactérie plus résistante que les autres. En l'occurrence ce facteur n'est pas pris en compte comme toutes les bactéries sont issues de la même culture.

## 2.4. Influence de la phase de croissance des bactéries

Jusqu'à maintenant seules les bactéries issues de la phase stationnaire (après 15 heures de croissance) ont été traitées par le plasma. Or, ce type de bactéries ne représente pas un modèle applicable sur toutes les bactéries issues de toutes les phases de croissance que l'on pourrait rencontrer, des résistances différentes peuvent en effet apparaître selon les stress que les bactéries ont dû subir dans leur passé. Ainsi, la phase dans laquelle les bactéries ont été prélevées puis traitées par le plasma est étudiée.

Au cours de la croissance des bactéries, assimilée au phénomène de division cellulaire, les bactéries entrent dans plusieurs phases distinctes imposées par la disponibilité de la nourriture dans le milieu de culture. En effet, la limitation de la nourriture engendre des modifications drastiques de la population bactérienne.

La courbe de croissance des *E. coli* K12, dans les conditions de culture utilisées dans cette étude, est représentée sur la Figure 94 par l'étude de l'absorbance à 600 nm du milieu de culture au temps correspondant, ainsi que par la survie bactérienne mesurée par la capacité des bactéries à former des colonies sur de la gélose TSA. La mesure de la densité optique à 600 nm permet d'obtenir l'absorbance de la biomasse (bactéries vivantes et mortes) de l'échantillon.

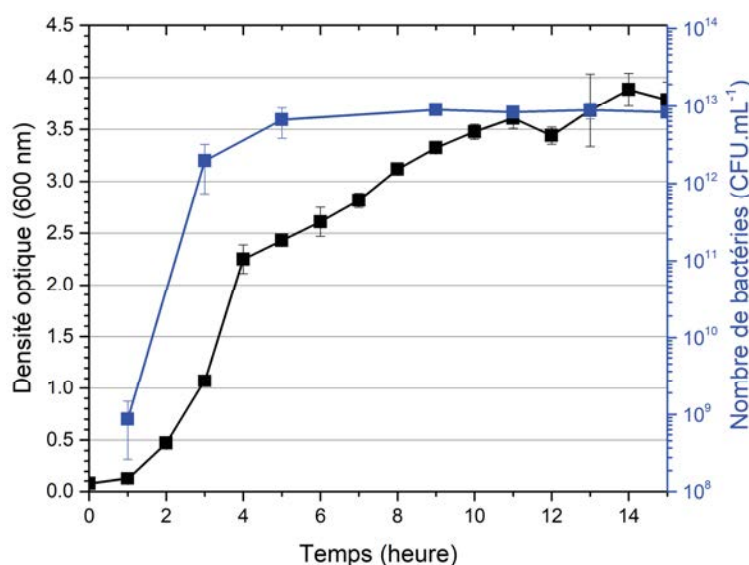


Figure 94 : Courbe de croissance des *E. coli* K12 par des relevés de densité optique et de la mesure du nombre de bactéries capable de créer des colonies sur gélose TSA.

La courbe de croissance démarre par une phase de latence, correspondant à une phase d'adaptation enzymatique des bactéries vis-à-vis du milieu. Dans notre cas, sa durée est d'environ une heure. La phase de croissance exponentielle (parfois appelée phase logarithmique) s'ensuit, caractéristique de l'abondance de nourriture permettant aux bactéries de se multiplier de manière exponentielle. Ici, cette phase est d'une durée

d'environ trois heures. Vient alors la phase stationnaire qui correspond à l'appauvrissement du milieu de culture, amenant à la mort d'une partie des bactéries. A ce stade, le milieu contient peu de nourriture ainsi que des bactéries mortes (considérées comme des déchets du point de vue des bactéries survivantes) : un équilibre précaire se forme entre la survie et la multiplication de certaines bactéries, et la mort d'autres bactéries. Comme la courbe est stoppée à 15 heures, la phase de déclin (vitesse de la mort bactérienne constante) n'est pas visible.

Ces phases sont visibles à la fois par l'étude de la densité optique de la suspension bactérienne, mais aussi lors de l'utilisation de gélose TSA. Dans les deux cas, des pentes différentes sont clairement visibles entre 0 à 3 heures (croissance) et 3 à 15 heures (plateau). La pente associée à la phase stationnaire obtenue avec la mesure de la densité optique de la culture n'est pas nulle car le nombre de bactéries vivantes reste constant, tandis que le taux de division cellulaire est proche du taux de mort cellulaire. Dans ce cas, la biomasse continue d'augmenter donc l'absorption du rayonnement à 600 nm continue d'augmenter également.

Dans toute la suite de ce travail, deux principaux instants de la croissance bactérienne sont exploités : à trois heures (à l'apogée de la phase exponentielle) et à quinze heures (au cours de la phase stationnaire).

Afin de révéler des processus que le dénombrement des colonies sur gélose est incapable de montrer, une autre méthode d'évaluation de la survie bactérienne a été utilisée. En effet, il existe de nombreux moyens de quantifier cette survie, chacun ayant leurs inconvénients et leurs avantages. La Figure 95 présente une partie de ces méthodes.

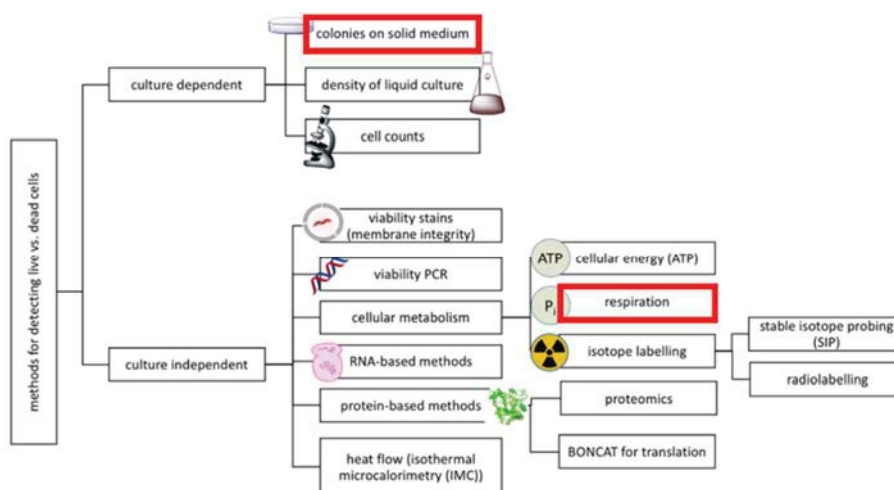


Figure 95 : Aperçu des techniques permettant de distinguer les bactéries vivantes des bactéries mortes [228]. Les méthodes utilisées jusqu'ici sont encadrées en rouge.

L'influence de la phase de croissance sur l'inactivation bactérienne suite à l'exposition au plasma a été quantifiée par l'évaluation de la respiration cellulaire, en plus du dénombrement des colonies sur TSA, tels que représentés sur la Figure 96.

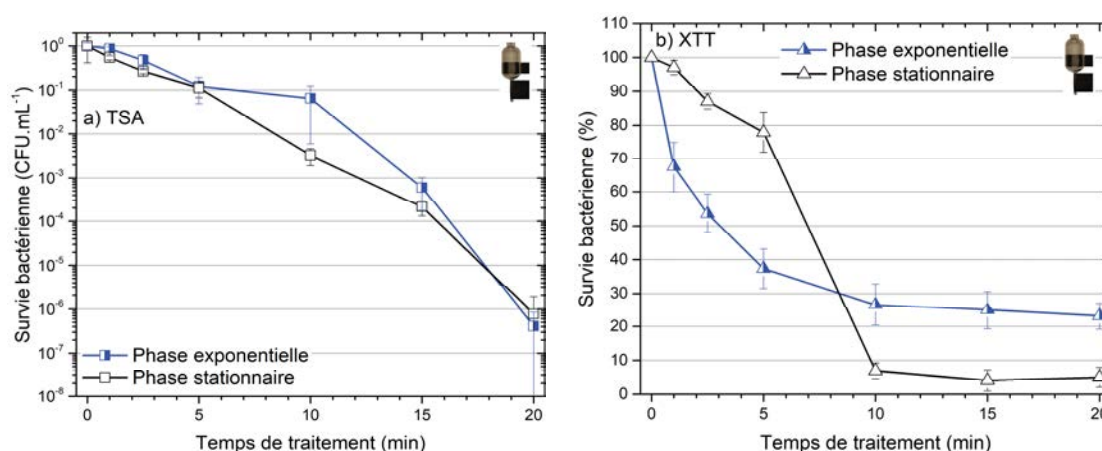


Figure 96 : Survies des bactéries en fonction de la phase dans laquelle les bactéries ont été prélevées (exponentielle ou stationnaire), a) mesurées par le dénombrement de colonies sur gélose TSA et b) évaluées par la respiration cellulaire (XTT).

Les survies des bactéries issues des deux phases diminuent au cours du temps, jusqu'à atteindre une décontamination de près de 99.9999% après 20 minutes de traitement. Les différences associées aux mesures de dénombrement sur gélose TSA ne sont pas significatives entre les deux phases (exceptées à 10 minutes où le nombre de colonies mesuré est de 1 à 2 logarithmes supérieurs avec les bactéries de la phase exponentielle). Ces résultats sont en bon accord avec ce qui a été observé par Winter *et al.* [229] où les bactéries *E. coli* n'ont pas montré de résistance significativement différente lors de leur dénombrement sur géloses, entre la phase exponentielle (3 heures de culture) et stationnaire (8 heures de culture), tout comme d'autres bactéries (*Pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus canis* et *Staphylococcus aureus*). Dans leur étude, seules les bactéries *Staphylococcus pseudintermedius* cultivées en phase stationnaire sont plus résistantes aux traitements par plasma comparées à celles de la phase exponentielle.

De la même manière que lors des mesures du dénombrement des colonies sur gélose, la respiration cellulaire diminue avec l'augmentation du temps de traitement, quelle que soit la phase considérée. Cependant, nous pouvons remarquer que peu avant 10 minutes, le nombre de bactéries issues de la phase stationnaire ayant une activité respiratoire est plus élevé comparé à l'autre phase. C'est l'inverse qui se produit à partir de ce même temps : la respiration des bactéries issues de la phase stationnaire tend vers un plateau autour de 5% environ, tandis qu'il est de 20% avec les bactéries de la phase exponentielle.

Une étude effectuée par *Dowds* [230] sur la résistance des *E. coli* face à des expositions de  $H_2O_2$  a révélé que ces bactéries en phase stationnaire possèdent des protections supplémentaires contrairement aux bactéries des autres phases. Ceci pourrait être expliqué par l'expression renforcée de certains gènes chez les bactéries de la phase stationnaire, comme ceux associées à la production de la catalase permettant l'inactivation du peroxyde d'hydrogène. Les gènes *katE* et *katG* sont tous les deux actifs en phase stationnaire, contrairement à la phase exponentielle où seul le gène *katE* est activé [231]. Ainsi, l'ajout d'une même quantité de  $H_2O_2$  sur des bactéries issues de la phase stationnaire et sur d'autres issues de la phase exponentielle, montre que les bactéries en phase stationnaire survivent bien plus facilement que leurs congénères en phase exponentielle [230]. *Cherchi et al.* [232] ont quant à eux montré la plus forte résistance des *E. coli* K12 lorsqu'elles sont cultivées en phase stationnaire, plutôt qu'en phase exponentielle ou de latence, lors de leur exposition au chlore. D'autres études suggèrent que les bactéries issues de la phase stationnaire sont structurellement, physiologiquement et fonctionnellement différentes des bactéries de la phase exponentielle [233]. Dans cette même étude, les *E. coli* en phase stationnaire présentent une augmentation de leur résistance au séchage à l'air comparé aux bactéries de la phase exponentielle. Ce résultat provient de l'adaptation de l'expression des gènes exprimés en réponse au choc osmotique, lorsque les bactéries sont en phase stationnaire uniquement [234].

L'évaluation de la respiration cellulaire a mis en évidence des comportements associés aux survies bactériennes bien différents des survies obtenues par l'utilisation des géloses TSA. Afin de procéder à des comparaisons entre les deux méthodes utilisées, la survie obtenue par dénombrement des colonies sur gélose TSA a été normalisée pour chaque phase et associée à l'évaluation de la respiration cellulaire, telles que représentées dans la Figure 97.

La méthode de survie utilisant l'évaluation de la respiration cellulaire fournie, pour la plupart des temps de traitement, une valeur de viabilité plus élevée que celle révélée sur la gélose TSA, quelle que soit la phase considérée. Cependant, là où les survies bactériennes mesurées sur gélose TSA ne montrent pas de différences significatives (excepté à 10 minutes) entre les deux phases des bactéries, l'utilisation de XTT prouve qu'au contraire l'activité respiratoire des bactéries est bien différente d'une phase à l'autre.

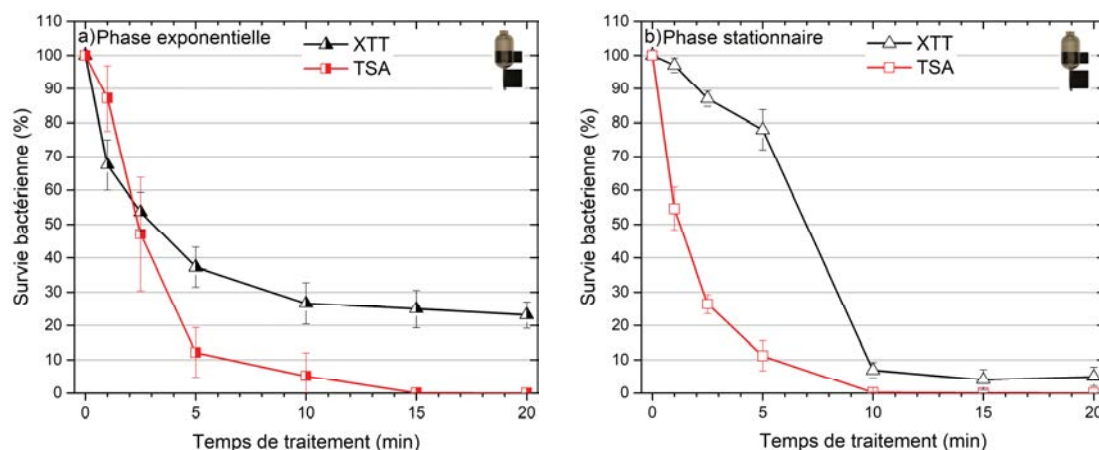


Figure 97 : Survies des bactéries en fonction de la phase dans laquelle les bactéries ont été prélevées : a) exponentielle ou b) stationnaire, évaluées par la respiration cellulaire (XTT) et mesurées par le dénombrement de colonies sur gélose TSA.

Les survies associées aux bactéries de la phase exponentielle issues des deux méthodes montrent qu'environ 50% des bactéries meurent après 2.5 minutes de traitement par plasma. L'augmentation de ce temps permet d'afficher un écart significatif entre les deux méthodes de détermination de la survie bactérienne. En effet, cet écart est d'environ 20% à partir de 5 minutes et jusqu'à 20 minutes de traitement.

Concernant la survie obtenue par dénombrement des colonies associée aux bactéries de la phase stationnaire, la tendance observée est similaire à celle issue des bactéries de l'autre phase, tandis que l'activité respiratoire des bactéries est maintenue à une forte valeur jusqu'à 5 minutes de traitement. Après ce temps, la respiration cellulaire et le dénombrement des colonies tendent vers une valeur similaire de telle manière qu'une différence de seulement 5% est observée entre ces deux méthodes.

Ainsi, selon la phase dans laquelle la bactérie a été prélevée, des résistances différentes peuvent apparaître face aux agents oxydants fournis par le plasma. Les bactéries de la phase exponentielle affichent des résistances après 2.5 minutes de traitement, tandis que celles de la phase stationnaire résistent mieux à des temps de traitement courts (inférieurs à 5 minutes), avant de subir des dégâts létaux. Dans ce dernier cas, une défaillance des mécanismes de protection des bactéries pourrait survenir après 5 minutes de traitement.

Les écarts relevés entre les deux méthodes de survie est caractéristique de l'entrée des bactéries dans un état particulier : l'état viable mais non cultivable (« viable but non culturable » ou VBNC). En effet, l'accumulation de lésions sous-létales au niveau de la structure ou de certaines fonctions des bactéries peuvent provoquer leur entrée dans cet état [162], ayant pour conséquence de rendre les bactéries plus résistantes aux conditions stressantes [235], [236]. Une bactérie dans l'état VBNC possède les caractéristiques suivantes (liste non exhaustive) [235] :



- maintien de leur intégrité membranaire ;
- possède une activité cellulaire ;
- possède une activité métabolique réduite donc est plus résistante aux conditions stressantes (RONS, antibiotique) ;
- possède une faible activité respiratoire ;
- transport de nutriment réduit ;
- structure globalement plus petite que sa forme initiale ;
- grand potentiel de membrane ;
- capacité de redevenir cultivable in vivo si les conditions sont favorables.

Une population bactérienne entrant dans l'état VBNC peut représenter un réel danger par plusieurs aspects, sachant qu'il n'est pas possible de les observer par les méthodes de comptages sur gélose. En réalité, un échantillon peut contenir une quantité importante de bactéries dans l'état VBNC alors que les méthodes conventionnelles déterminant la survie des bactéries indiquent que l'échantillon ne contient peu ou pas de bactéries viables.

Dans notre cas, les bactéries *E. coli* sont capables d'entrer dans un tel état, ce qui justifierait pourquoi un écart est observé entre les résultats issus des deux méthodes de détermination de leur survie : les bactéries possèdent une faible activité respiratoire tandis qu'elles ne forment quasiment plus aucune colonie sur gélose TSA, en accord avec la description de l'état VBNC des bactéries. Tandis qu'une partie des bactéries issues de la phase stationnaire entrent rapidement dans cet état, les bactéries de la phase exponentielle ont besoin d'un temps supplémentaire correspondant à 2.5 minutes de traitement, avant d'y entrer à leur tour.

Le problème majeur de l'état VBNC repose sur le devenir des bactéries après que les conditions favorables sont revenues : les bactéries sont capables de se réactiver [237], tout en conservant leur état pathogène initial [238]. En d'autres termes, retirer les conditions stressantes conduisant à l'état VBNC des bactéries est suffisant pour les en faire sortir. Par exemple, des études portant sur l'effet de la température sur *Vibrio parahaemolyticus* et *Salmonella enterica* ont montré que les placer dans un environnement où la température était de 10 °C provoquait leur entrée dans l'état VBNC, avant de revenir dans leur état initial lors de l'augmentation de la température jusqu'à la température de la pièce [239], [240]. Le peroxyde d'hydrogène est lui-aussi capable de faire entrer les bactéries dans l'état VBNC s'il est présent en trop grande quantité, d'après une étude réalisée sur *Vibrio vulnificus* lorsque certaines enzymes intracellulaires propres à la

régulation du peroxyde d'hydrogène sont supprimées [241]. Dans notre cas, comme la quantité de peroxyde d'hydrogène générée en phase liquide est relativement élevée (chapitre 4), nous pourrions également supposer que de telles concentrations puissent provoquer l'entrée des bactéries dans l'état VBNC.

Il est donc nécessaire d'adapter la méthode utilisée pour mesurer la quantité de bactéries restantes dans un échantillon, en particulier si elles peuvent entrer dans l'état VBNC. Les travaux de *Dolezalova et al.* [129] ont montré que l'utilisation de la méthode de comptage sur gélose a révélé une réduction de la population bactérienne de 7 logarithmes, tandis que l'évaluation de la viabilité par l'étude des membranes cellulaires a révélé seulement 1 logarithme de réduction. En conséquence, des techniques utilisant la mesure du potentiel des membranes ou en évaluant l'intégrité membranaire des bactéries, pourraient être privilégiées afin d'éviter toute erreur sur le contenu en bactérie de l'échantillon. Le choix de la méthode doit être réalisé en utilisant une ou plusieurs méthodes représentées dans la Figure 95.

### 3. Impact du jet de plasma sur les membranes bactériennes

L'étude de la décontamination des bactéries contenues dans le milieu liquide a montré que le plasma est capable d'induire des stress suffisamment forts pour faire entrer les bactéries dans l'état VBNC. Cette partie se focalise sur la façon dont les membranes des bactéries sont affectées de manière à permettre aux espèces réactives apportées par le plasma de provoquer des stress suffisamment importants, voire de provoquer leur mort.

#### 3.1. Modifications membranaires vues par la microscopie électronique à balayage

Les principales causes expliquant la mort d'une bactérie suite à son traitement par plasma reposent sur les dégradations de la membrane bactérienne et notamment sur les dommages liés à l'ADN contenu dans le cytoplasme des bactéries, par les agents oxydants apportés par le plasma [242]. Ainsi, l'étude de la constitution de leur membrane constitue un paramètre clé dans la compréhension de ce qu'il advient des bactéries après leur traitement par plasma. C'est dans ce but que la microscopie électronique à balayage (SEM) est utilisée. Des images de bactéries obtenues par SEM permettent de révéler les différences de morphologies entre les bactéries avant et après leur exposition sous le jet de plasma. La Figure 98 présente des photographies obtenues grâce à cette technique de microscopie, dans le cas où les bactéries initiales sont issues de la phase exponentielle ou stationnaire.



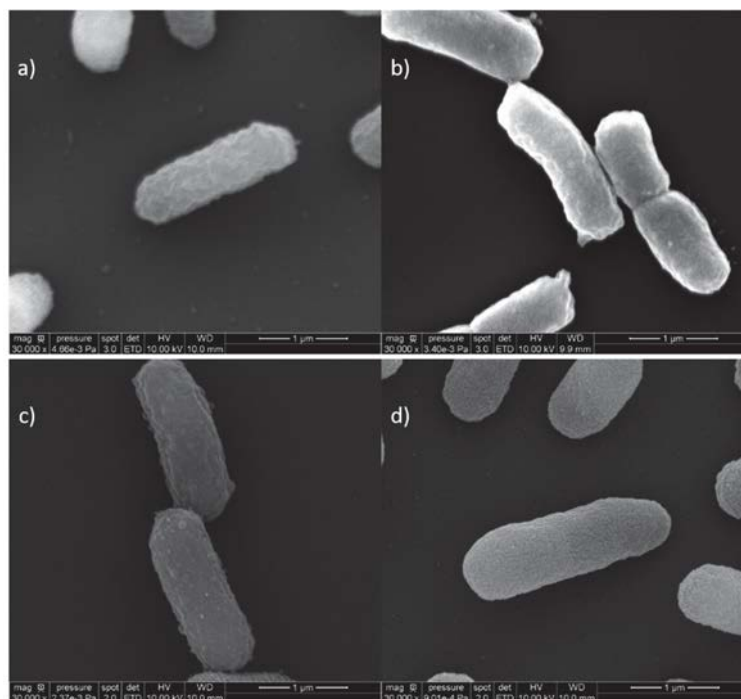


Figure 98 : Photographies issues de la microscopie électronique à balayage des *E. coli* issues de la phase exponentielle a) avant et b) après 20 minutes de traitement, ou issues de la phase stationnaire c) avant et d) après 20 minutes de traitement.

Aucune réelle différence morphologique n'est observée entre les cas avant et après traitements pour chaque phase. D'autres études ont montré que des traitements de bactéries contenues dans du liquide par différents types de plasmas sont capables d'induire des dommages visibles sur les parois des bactéries [130], [132], [243], [244]. En particulier, la forme des bactéries peut tendre à devenir une sphère, en contraste avec sa forme de bacille initiale [130], [244] (comme observé ici), pouvant s'expliquer par une tendance à réduire l'effet du champ électrique sur la membrane de la bactérie de manière à réduire le risque de lésion membranaire. L'autre particularité de cette nouvelle forme est la diminution de l'activité métabolique des bactéries dû à leurs besoins énergétiques eux-aussi réduits [245]. Dans cette configuration sphérique, le champ électrique doit être plus important pour provoquer la rupture des membranes, par rapport à leur forme de bacille initiale.

Dans notre cas nous n'observons pas de telles configurations, sans doute car le temps de contact entre les bactéries et les RONS n'est pas assez long pour provoquer de changements visibles importants au niveau des membranes. Or, comme les études de survies bactériennes l'ont montré, les bactéries subissent des dégâts relativement importants. Les modifications des bactéries peuvent donc être internes, sans laisser de traces sur leur membrane. Ce procédé a été décrit dans les bactéries à Gram positif [246] où le matériel génétique est attaqué par les espèces du plasma, tandis que l'extérieur des

bactéries ne présente pas de disruptions membranaires ou de changements morphologiques. Un processus similaire pourrait être observé dans notre cas car les RONS diffusent plus lentement dans le liquide que dans l'air. Ainsi, un phénomène de décontamination plus lent que celui observé lors de la décontamination de surface solide (gravure) [247]–[249] pourrait donc avoir lieu ici.

Les travaux de *Joshi et al.* [132] ont souligné l'importance de l'effet des RONS sur l'inactivation bactérienne. En effet, après avoir injecté les bactéries dans du PBS activé par plasma et après une attente de plusieurs heures, la mort des bactéries survient. Seul l'effet des RONS induit la mort cellulaire comme les effets du pH, des UV, du champ électrique et des espèces à courte durée de vie sont annulés par l'utilisation du traitement indirect. De plus, des modifications morphologiques sont visibles sur celles-ci. Cette étude prouve que l'action continue des RONS à longue durée de vie sur les bactéries pourrait être en grande partie responsable de leur mort et de leur changement morphologique à long terme seulement. Dans ce sens, les travaux de *Ziuzina* [250] ont montré que le traitement par plasma des bactéries, suivi de leur stockage pendant 24 heures dans le liquide traité, est capable d'induire de légères modifications morphologiques au niveau des bactéries puisqu'elles ont des tailles réduites. Aucune lyse cellulaire au niveau des membranes n'a cependant été observée. La raison invoquée expliquant l'inactivation des bactéries sans montrer de gros changements morphologiques au niveau des membranes, repose sur la diffusion des espèces du plasma à travers la membrane cellulaire, jusqu'à ce que ces espèces atteignent le contenu protéique des bactéries afin de les endommager et de provoquer leur mort. C'est probablement le même phénomène qui a été observé par *Patil et al.* [251], dont les travaux mettent en évidence l'inactivation des bactéries par la diffusion de l'ozone à travers leur membrane, sans provoquer de lyse apparente.

Ainsi, nous pouvons supposer que dans notre cas, les RONS en phase liquide sont capables de rentrer dans les bactéries sans leur infliger de dommages au niveau de leur membrane externe. De plus, le temps d'exposition de ces bactéries avec les RONS est suffisamment court (moins de 20 minutes) pour ne pas provoquer de dommages membranaires.

### 3.2. Quantification de la perméabilisation des membranes des bactéries

Un stress oxydatif suffisamment important est susceptible de réduire le potentiel de la membrane jusqu'à y entraîner une brèche. C'est par ce biais que l'iodure de propidium est capable de pénétrer dans les bactéries pour se fixer à l'ADN intracellulaire. Comme les échantillons avant traitement contiennent un mélange de bactéries mortes et de bactéries vivantes, sa fluorescence n'est initialement pas nulle. En conséquence, chaque valeur de fluorescence d'une série de mesure est divisée par la valeur de fluorescence du

contrôle de cette série. La Figure 99 représente la fluorescence des bactéries issues des deux phases.

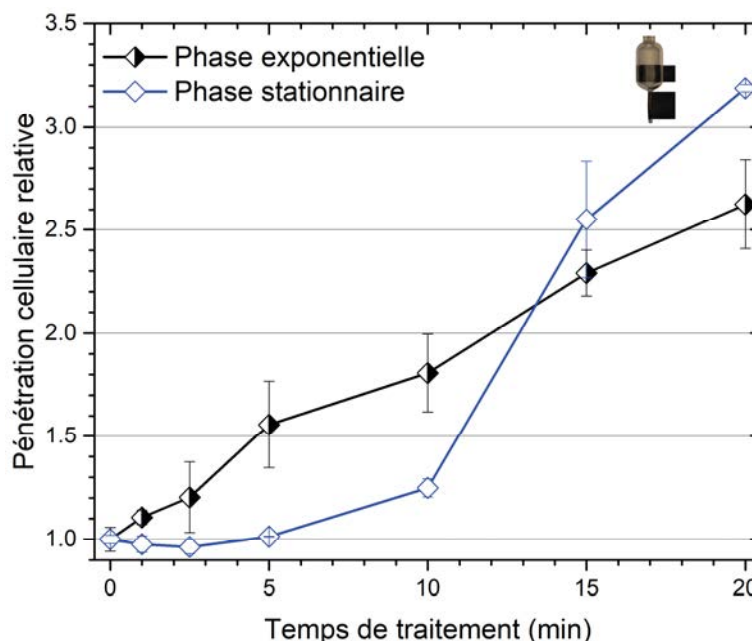


Figure 99 : Pénétration cellulaire relative de l'IP en fonction du temps de traitement dans le cas où les bactéries sont issues de la phase exponentielle ou stationnaire.

La pénétration cellulaire augmente avec le temps de traitement, quelle que soit la phase étudiée. Deux tendances sont cependant observées : au cours des dix premières minutes, la proportion des bactéries ayant leur membrane endommagée est plus importante avec les bactéries de la phase exponentielle, moins résistantes que les bactéries de l'autre phase. Elles sont en effet moins préparées à des attaques oxydantes (ou à des conditions stressantes en général), ce qui implique que leur mécanisme de défense a été moins utilisé en comparaison avec les bactéries de la phase stationnaire. D'autre part, au-delà de 10 minutes de traitement, la pénétration de l'IP est plus importante avec ces dernières, signe que les espèces réactives peuvent pénétrer davantage dans les bactéries afin de détruire le contenu des bactéries. L'évolution de la fluorescence de l'IP dans les bactéries de la phase exponentielle est linéaire avec l'augmentation du temps de traitement, sur toute la plage de temps étudiée.

Ces phénomènes peuvent être mis en relation avec l'évaluation de la respiration des bactéries afin de révéler les liens existants entre ces deux données, c'est l'objet de la Figure 100. Sur cette figure, les survies des bactéries des deux phases obtenues par comptage des colonies sur gélose et par la quantification de leur respiration, ainsi que le nombre relatif d'IP capable de pénétrer dans les bactéries, sont représentés.

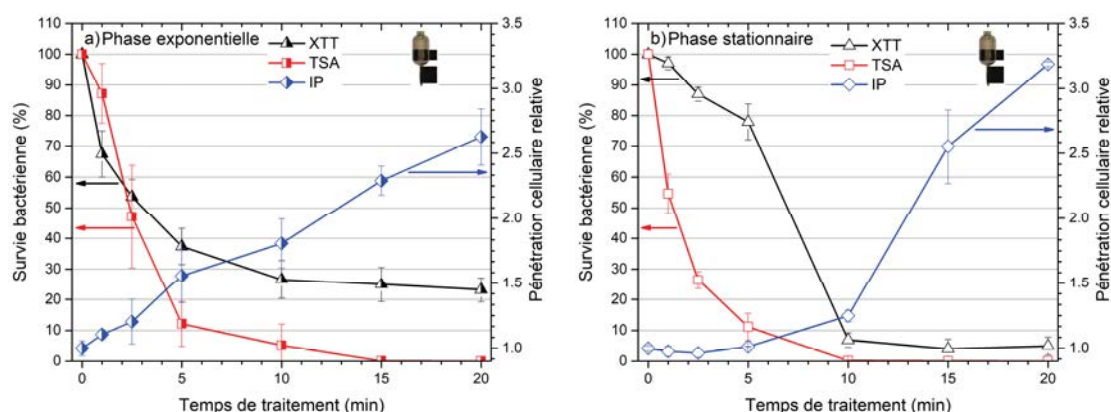


Figure 100 : Survies des bactéries en fonction de la phase dans laquelle les bactéries ont été prélevées : a) exponentielle ou b) stationnaire, révélées grâce à leur respiration (XTT) et par la formation de colonies sur gélose TSA. La part de bactérie dont les membranes sont perméables à l'IP est également représentée.

Comme mentionné précédemment, traiter des bactéries de la phase stationnaire plus de 5 minutes permet de leur infliger des dégâts létaux importants, abaissant leur survie évaluée par leur respiration. La pénétration de l'IP va globalement dans ce sens comme un temps de plus de 10 minutes est nécessaire pour augmenter brutalement le nombre de bactérie perméable à l'IP. Il subsiste toutefois une incertitude quant à la compréhension du décalage temporel apparaissant entre le temps nécessaire pour provoquer des blessures létales aux bactéries (supérieur à 5 minutes) et celui correspondant à leur perméabilisation massive (supérieur à 10 minutes). Nous pourrions donc supposer que le processus suivant se produise : les bactéries de la phase stationnaire sont suffisamment résistantes durant les premières minutes de traitement en entrant dans l'état VBNC pour supporter l'attaque des agents oxydants fournis par le plasma. Par contre, pour un temps supérieur, la perméabilisation de leur membrane est massivement effectuée grâce au surpassement de leur moyen de défense, ce qui permet aux espèces réactives de pénétrer les bactéries afin de détruire leur contenu, abaissant drastiquement leur survie après 20 minutes de traitement.

A l'inverse, les bactéries de la phase exponentielle affichent une constante augmentation de leur perméabilisation membranaire avec le temps. Ainsi, ces bactéries atteignent l'état VBNC est atteint après 2.5 minutes environ, ce qui les rend plus résistantes face au plasma comme indiqué par leur respiration cellulaire conservée même après 20 minutes de traitement, et leur perméabilisation plus faible comparée à l'autre type de bactérie.

### 3.3. Etude de la perméabilisation des membranes par peroxydation des lipides

La peroxydation des lipides membranaires induits par les RONS est un phénomène permettant d'expliquer de quelle manière les membranes des bactéries se perméabilisent [130], [252]. Le phénomène de peroxydation des lipides est une conséquence de l'attaque des RONS, et plus particulièrement des radicaux, au niveau de la membrane bactérienne. Plusieurs études ont permis de confirmer l'implication majeure des RONS dans le processus de peroxydation des lipides, lorsque de la vitamine E a été utilisée comme inhibiteur de RONS. Ceci a eu pour effet de, non seulement stopper la peroxydation des lipides, mais plus généralement de stopper l'inactivation des bactéries [253], [254]. Lors de l'arrivée d'un RONS au niveau de la surface de la bactérie, un échange d'électrons a alors lieu entre ce RONS et les lipides de la membrane, provoquant ainsi l'apparition d'autres RONS, de malondialdéhyde (MDA), d'aldéhydes ou encore de 4-hydroxynonenal [255], [256], toxiques pour l'ADN et donc pour la bactérie. En particulier, les radicaux hydroxyles et les oxygènes singulets peuvent réagir avec la matière organique présente dans la cellule, amenant à la destruction de l'ADN [248], alors que le MDA peut réagir avec l'ADN pour former un adduit aux nucléotides capable d'entraver la réplication des bactéries [129].

Le MDA est le composé que l'on quantifie par la méthode utilisée ici car il représente un produit majoritaire de la peroxydation des lipides [130]. La Figure 101 représente la quantité de MDA formée après traitement par plasma des bactéries issues des deux phases. Notons que la peroxydation des lipides d'une bactérie peut continuer d'avoir lieu même si la bactérie est morte [129]. La membrane peut toujours, même si elle ne représente plus qu'une coquille vide, subir l'attaque des RONS donc être le siège de la peroxydation des lipides. Une augmentation de MDA n'est pas forcément le signe que le nombre de bactéries touchées par cette peroxydation augmente. Il n'est pas possible de différencier le MDA provenant d'une cellule saine de celui provenant d'une cellule déjà morte (ou simplement endommagée).

Il faut cependant noter que la peroxydation des lipides est un processus continu chez les bactéries, certes à un degré plus faible qu'en présence d'une source oxydante comme le jet de plasma, mais qui doit néanmoins être régulé en permanence pour empêcher cette peroxydation d'entrer dans une phase dite auto-catalytique (réaction chimique où l'un des produit agit comme catalyseur de cette réaction) [130]. Cette régulation est effectuée par des enzymes telles que la superoxyde dismutase (SOD) et la catalase. Si la quantité (ou l'activité) de ces deux groupes d'enzymes est trop faible face à la quantité de ROS créée par le plasma, alors la peroxydation des lipides de la membrane se fera sans contrôle, entraînant des dysfonctionnements au niveau de la membrane bactérienne [130].

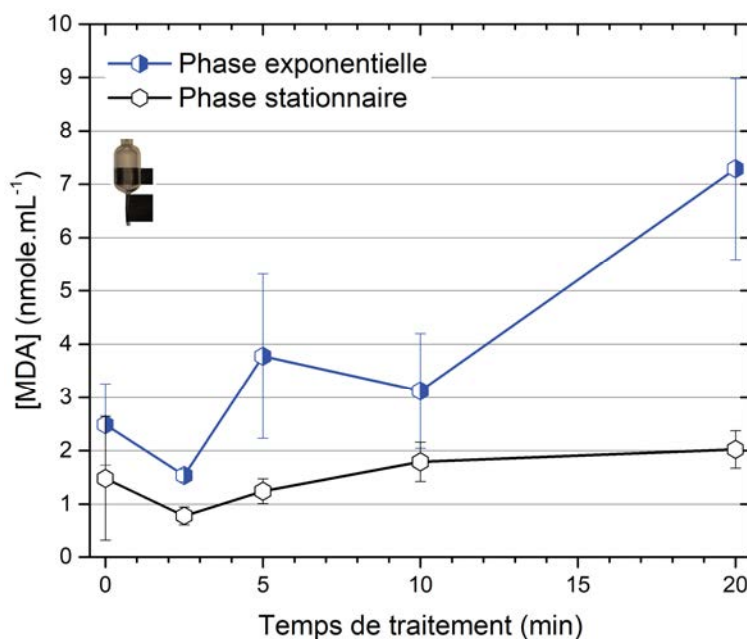


Figure 101 : Concentration en MDA en fonction du temps de traitement dans le cas où les bactéries sont issues de la phase exponentielle ou stationnaire.

Le mécanisme de rupture des membranes des bactéries à Gram négatif a pu être expliqué par une accumulation d'espèces chargées sur la surface externe de leur membrane [257]. Comme cette membrane est constituée d'une mince couche de peptidoglycane et d'une membrane externe en lipopolysaccharides, les RONS générés peuvent réagir avec ces deux couches, brisant ainsi la structure moléculaire de la membrane en endommageant les liaisons carbone/oxygène, carbone/azote et carbone/carbone [258], [259]. L'endommagement de ces liaisons entraîne une altération du transport des molécules à l'intérieur et à l'extérieur de la bactérie. Les espèces réactives peuvent alors diffuser plus facilement au sein de la bactérie jusqu'à interagir avec le matériel génétique intracellulaire entraînant la mort cellulaire, ou alors l'entrée de la bactérie dans l'état VBNC si elle le peut [260].

La tendance de la courbe associée aux bactéries de la phase exponentielle nous indique que la concentration en MDA, donc la peroxydation des lipides, augmente avec le temps de traitement. La concentration en MDA issue des traitements des bactéries de la phase stationnaire montre une évolution différente comme elle augmente beaucoup plus lentement avec le temps, tout en restant inférieure à celle associée aux bactéries de la phase exponentielle. Cependant, nous nous attendions à obtenir des tendances très similaires à celles obtenues avec la perméabilisation cellulaire, comme l'ont indiqué *Dolezalova et al.* [129]. En effet, dans leur travail, la révélation de la fuite d'ADN des bactéries traitées par plasma dans le milieu liquide, a permis d'établir un lien entre la peroxydation des lipides et la perméabilisation des membranes des bactéries. Cela signifie que l'augmentation du phénomène de peroxydation des lipides engendrerait



l'augmentation de la pénétration de l'IP dans les bactéries. Dans notre cas, ce lien n'est pas révélé ici comme la peroxydation des lipides membranaires n'est à aucun moment la plus élevée avec les bactéries de la phase stationnaire, comme la pénétration de l'IP l'a révélée plus tôt. L'hypothèse la plus probable expliquant ces écarts repose sur les mesures relativement basses des concentrations de MDA. En effet, ces valeurs sont proches de la limite basse de détection de la technique, à l'origine d'incertitudes trop grandes sur les mesures, donc les rendant moins fiables. Une solution capable de contourner ce problème consiste à utiliser une suspension bactérienne encore plus concentrée, afin d'augmenter la quantité de MDA produite dans l'échantillon traité.

## 4. Mécanismes de défense des bactéries contre les agents oxydants apportés par le plasma

La partie précédente a mis en avant la façon dont les agents oxydants du plasma étaient capables de rentrer dans les bactéries. La phase des bactéries a un gros impact sur leur réaction face aux agents oxydants, comme la formation des protéines permettant de contrer ces agents dépend des événements stressants que les bactéries ont pu voir au cours de leur existence. L'étude des protéines contenues dans les bactéries, et plus particulièrement des protéines superoxydes dismutases, pourrait permettre d'expliquer les différences de résistance entre les deux types de bactéries.

### 4.1. Lésions sous-létales induites par le plasma

Lors d'une exposition au plasma, les bactéries peuvent réagir de plusieurs manières face au stress oxydatif pour s'en protéger. Nous avons vu précédemment qu'une population de bactérie était capable d'entrer dans l'état VBNC alors que d'autres non. Cependant, un stade intermédiaire existe entre la bactérie saine et la bactérie dans l'état VBNC, il s'agit des bactéries ayant reçues des lésions sous-létales. Ce type de bactérie est caractérisé par des lésions au niveau de sa structure cellulaire, ainsi que par la perte d'une partie de ses fonctions cellulaires. Pourtant, l'incapacité des bactéries à former des colonies sur des milieux restrictifs n'est en général que temporaire. Leur réparation métabolique peut en effet se produire si le temps de récupération est suffisant et si les conditions environnementales le permettent [162]. L'étude qui suit permet de mettre en évidence le phénomène de lésions sous-létales en utilisant un milieu de culture restrictif sous forme de gélose contenant un mélange TSA + 3% NaCl [261]. De cette manière, la résistance des bactéries face au plasma sera mise en avant comme l'augmentation du nombre de bactéries affichant des lésions sous-létales signifiera que ces bactéries sont capables de se réparer si elles en ont l'occasion. La différence de population mesurée par



les deux milieux TSA et TSA + 3% NaCl correspond au nombre de bactéries ayant reçu ce type de lésions sous-létales, telle que représentée sur la Figure 102.

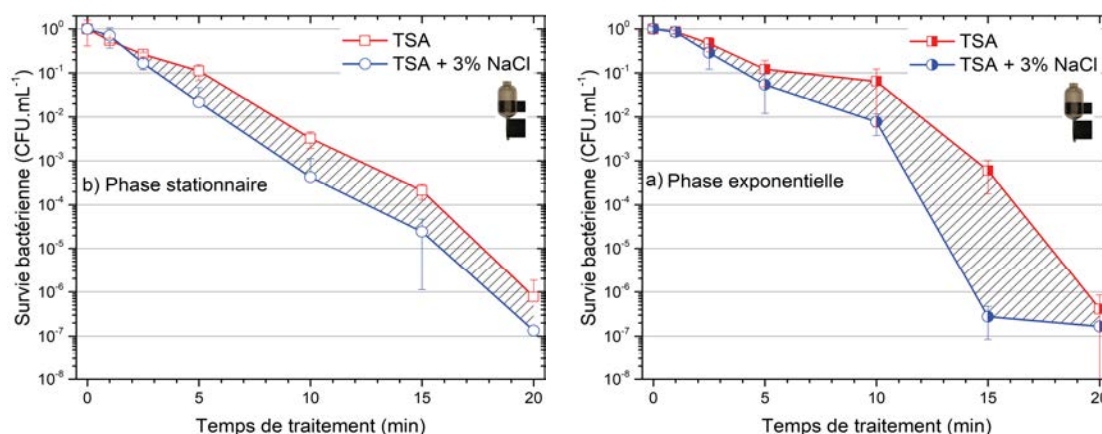


Figure 102 : Survies des bactéries provenant de la phase a) exponentielle ou b) stationnaire mesurées par le dénombrement de colonies sur des géloses TSA ou TSA + 3% NaCl. La zone hachurée correspond à la population de bactéries avec des lésions sous-létales.

Une différence de 1 logarithme est observée entre les deux types de géloses pour les deux types de bactéries et tous les temps, excepté pour les bactéries de la phase exponentielle après 15 minutes de traitement, qui affichent une différence de 3 logarithme environ. Ce dernier résultat est en accord avec d'autres travaux sur d'autres types de bactéries [236], [262], où la différence entre les bactéries saines et celles ayant subies des lésions sous-létales est également de 3 logarithmes. A 15 minutes, l'étude de la phase stationnaire ne montre pas de similarité avec cet évènement. Cela signifie que les bactéries de la phase exponentielle sont capables de se régénérer beaucoup plus facilement dans des conditions favorables, contrairement aux autres bactéries à 15 minutes. L'activité respiratoire de ces dernières a en effet montré qu'après 5 minutes, les lésions qu'elles subissent sont létales comme elle est quasiment inexistante à partir de ce temps. Les lésions sous-létales induites par le plasma sont donc plus facilement réparables par les bactéries de la phase exponentielle, spécifiquement à 15 minutes de traitement.

Plusieurs travaux [263], [264] ont montré que le traitement des bactéries avec des faibles doses d'énergie plasma permettait de favoriser l'apparition de lésions sous-létales, contrairement à des doses plus élevées capable de provoquer l'entrée des bactéries dans l'état VBNC bien plus rapidement. Ceci confirme qu'au cours d'un traitement par plasma, les lésions sous-létales ne représentent qu'un stade transitoire entre la cellule saine et la cellule entrant dans l'état VBNC [162]. L'apparition de lésions sous-létales a été également décrit pour d'autres types de traitements impliquant le chlore [265], la hausse de la température [266] ou encore les champs électriques [267]. En particulier, les travaux de *Espina et al.* [266] ont montré une bonne corrélation entre la présence de

lésions sous-létales et l'intégrité de la membrane cellulaire mesurée par la pénétration de l'IP.

Néanmoins, les processus exacts à l'origine de l'apparition des lésions sous-létales lors du traitement des bactéries par plasma sont toujours à déterminer. *Dolezalova et al.* [268] ont cependant avancé l'hypothèse que les RONS produits par le plasma étaient à l'origine de l'apparition de lésions sous-létales par le processus de peroxydation des lipides membranaires. L'étude des protéines intracellulaires pourrait s'avérer révélateur de la façon dont les agents oxydants sont contrôlés par les bactéries. Leur survie est en effet principalement conditionnée par l'action d'enzymes, notamment les enzymes impliquées dans la réponse au stress oxydatif.

#### 4.2. Quantification des enzymes impliquées dans la réponse des bactéries au stress oxydatif

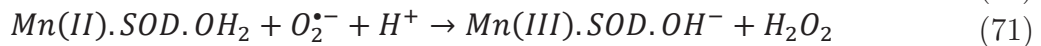
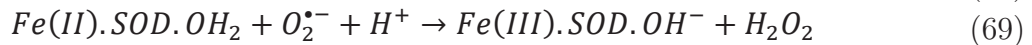
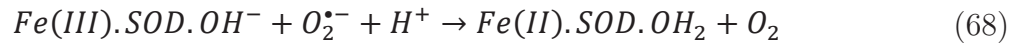
Les ROS, générés en continu par les bactéries aérobies, sont maintenues à des concentrations suffisamment basses pour qu'ils soient tolérables par la cellule. Cette régulation est réalisée par l'action d'enzymes spécifiques, comme la superoxyde dismutase qui est capable de détruire les anions radicalaires  $O_2^{\bullet-}$ . L'expression de ces enzymes de défense est adaptée en réponse à d'éventuelles menaces oxydatives venant de l'extérieur à la bactérie. Cependant, cette protection de base n'est pas suffisante pour protéger les cellules contre les augmentations soudaines et importantes des ROS, capables de dégrader les matériaux cellulaires comme les lipides, les protéines ou encore l'ADN [269]. Pour faire face à de tels stress oxydatif, les *E. coli* déclenchent des réponses globales rapides, conçues pour éliminer les ROS, réparer les dommages oxydatifs et induire un métabolisme adapté, permettant aux bactéries de survivre dans des conditions où la concentration des ROS est élevée [269]. Chez les *E. coli*, les systèmes de régulation SoxRS et OxyRS permettent de gérer la génération des enzymes contrôlant le stress oxydatif [269]–[271].

Le régulon SoxRS est induit dans un processus en deux étapes. L'activation de SoxR permet d'induire l'expression du gène *soxS* en réponse à des agents oxydants telles que la superoxyde dismutase, provoquant ainsi la transcription de plusieurs gènes par la protéine SoxS. La production d'environ 40 protéines des *E. coli* sont ainsi induites, telle que les superoxydes dismutases, les endonucléase IV, les aconitases, etc., chacun ayant sa fonction particulière dans la protection de la bactérie [272]. De même, le régulon OxyRS est induit dans un processus en deux étapes. L'exposition des bactéries au peroxyde d'hydrogène permet d'activer l'OxyR et de provoquer la synthèse d'une quarantaine de protéines des *E. coli*, dont la catalase HPI, l'alkyle hydroperoxyde réductase, la glutathion-réductase, etc. [273].

Dans cette étude préliminaire, afin de caractériser la réponse enzymatique des cellules bactériennes au stress induit par l'exposition au plasma, nous avons choisi l'enzyme superoxyde dismutase (SOD). Chez les bactéries à Gram négatif, et en particulier chez les *E. coli*, trois types de SOD existent et sont différenciés par leur site actif : Mn-SOD, Fe-SOD, et Cu/Zn-SOD, codés par les gènes *sodA*, *sodB* et *sodC* respectivement [274]. La répartition des SOD dans la bactérie varie en fonction du site actif en jeu. En effet, le manganèse et le fer sont généralement situés dans le cytosol (la partie liquide du cytoplasme) alors que l'association du cuivre et du zinc se trouve dans le périplasma de la bactérie [275]. Le rôle des SOD est de convertir les anions superoxydes en dioxygène et en peroxyde d'hydrogène.

La version primitive des différentes SOD contenait du Fe [276]. L'évolution des organismes au fil du temps leur a permis d'employer une nouvelle SOD à base de Mn, comme la biodisponibilité du Fe diminuait [276]. Les Mn-SOD et Fe-SOD possèdent de fortes similarités, ce sont des dimères qui partagent 43% d'acides aminés [276]. Dans les deux cas, l'ion métallique Fe ou Mn se lie à une molécule par des liaisons hydrogène. Ainsi, les activités associées à ces deux enzymes ne montrent pas de différences évidentes [276].

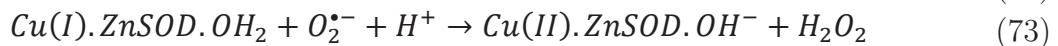
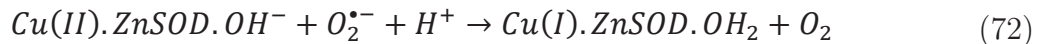
Les mécanismes d'action des Mn-SOD et Fe-SOD sont les suivants [276] :



Une autre enzyme est également présente dans le cytosol de la bactérie *E. coli*, il s'agit de la Mn-Fe SOD hybride [277]. Les métaux contenus dans cette SOD particulière sont tous deux fonctionnels [277].

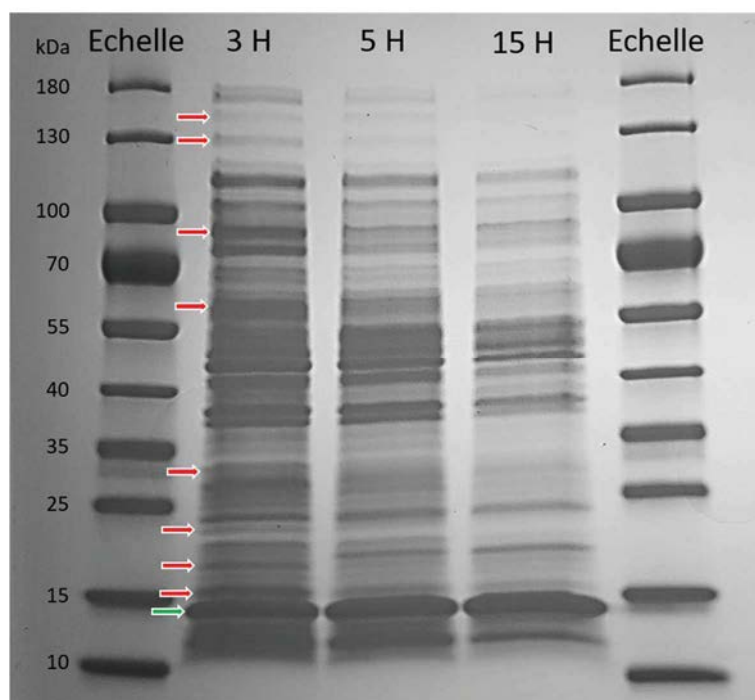
La Cu/Zn-SOD, contenue dans le périplasma des bactéries, possède une structure monomérique. Chez les *E. coli*, cette SOD constitue environ 2% de l'activité totale des SOD contenues dans la bactérie [278].

Les mécanismes d'action de la Cu/Zn-SOD sont tels que [279] :



Les SOD ne traversent généralement pas les membranes biologiques [275] : la Mn-SOD et la Fe-SOD éliminent les anions superoxydes intracellulaires, tandis que la Cu/Zn-SOD, du fait de sa position dans la bactérie, élimine les anions superoxyde venant de l'extérieur à la bactérie.

Ainsi, les bactéries sont capables de répondre à des conditions stressantes par la synthèse d'une multitude de protéines induites par les régulons SoxRS et OxyRS. Or, l'étude du comportement des bactéries issues des deux phases a montré des différences importantes au niveau de leur survie. Ces différences pourraient s'expliquer initialement par la façon dont les enzymes sont synthétisées au sein des bactéries selon leur phase, avant même que les bactéries soient exposées au plasma. Ainsi, une électrophorèse des protéines contenues dans les bactéries avant leur traitement par le plasma a été réalisée. La Figure 103 montre la séparation électrophorétique des protéines totales provenant des *E. coli* cultivées pendant 3, 5 et 15 heures. Une échelle contenant les poids moléculaires connus de plusieurs protéines (en kDa) est ajoutée de part et d'autre des échantillons.



*Figure 103 : Electrophorèse des protéines issues des bactéries de trois cultures différentes (3, 5 et 15 heures). Les flèches rouges représentent les bandes moléculaires qui disparaissent avec l'augmentation du temps de culture, tandis que la flèche verte indique la bande qui s'intensifie avec ce temps.*

L'analyse des profils d'électrophorèse pour les trois temps de croissance montre des différences claires dans la distribution des protéines. En effet, de manière générale, le passage des bactéries issues de la phase stationnaire est caractérisé par une réduction de l'intensité des bandes de protéines (flèches rouges), notamment celles ayant une masse moléculaire relativement grande. A l'inverse, la bande correspondant à un poids d'environ 14.5 kDa (flèche verte) s'intensifie de plus en plus avec l'augmentation du temps de culture des bactéries.

Il faut cependant noter qu'une seule et même bande révélée sur le gel peut contenir plusieurs protéines. En effet, deux protéines dont les fonctions sont différentes peuvent posséder des masses moléculaires suffisamment proches pour qu'aucune distinction ne soit possible sur le gel SDS-PAGE.

Ainsi, la phase dans laquelle les bactéries sont issues a révélée des différences majeures dans l'expression des protéines qu'elles contiennent. Par la suite, seules les SOD seront étudiées afin de quantifier leur importance dans les mécanismes de défense des bactéries face à des stress extérieurs. Les valeurs des activités totales des SOD des phases exponentielle (3 heures) et stationnaire (15 heures) sont listées dans le Tableau 13, tandis que les activités séparées de chacune des SOD de l'échantillon sont révélées par la zymographie présentée sur la Figure 104. Le temps sous chaque colonne indique la durée des expositions des bactéries par le plasma.

*Tableau 13 : Valeurs des activités totales des superoxydes dismutases intracellulaires en fonction du temps de traitement et de la phase étudiée. Les activités sont données en % d'inhibition/mg protéine. Si deux valeurs affichent deux indices différents (a, b, c ou d), alors leur différence est significative (ANOVA one-way,  $p < 0.05$ ).*

Temps de traitement (min)	Phase exponentielle		Phase stationnaire	
	Activité SOD	Incertitude	Activité SOD	Incertitude
0	30 <sup>a</sup>	6	53 <sup>c</sup>	7
2.5	35 <sup>a</sup>	6	49 <sup>c</sup>	8
5	33 <sup>a</sup>	10	56 <sup>c</sup>	6
10	49 <sup>b</sup>	10	71 <sup>d</sup>	4

Trois bandes moléculaires apparaissent sur la zymographie, elles correspondent à la Mn-SOD (en haut), à la Fe-SOD (en bas), et à une SOD hybride constituée à la fois de Mn et de Fe (au milieu), dont les deux métaux sont fonctionnels [277]. La SOD hybride contient environ 50% de chacun des deux métaux (Fe et Mn), ce qui fait apparaître sa bande à mi-distance entre celles du Mn-SOD et du Fe-SOD [277], [280]. Son intensité reste cependant très faible comparée aux deux autres SOD. Un contraste plus prononcé permet cependant d'observer plus distinctement son activité (voir annexe 4).

Lors de l'étude des bactéries en phase stationnaire, l'activité des SOD a tendance à augmenter avec le temps de traitement, jusqu'à 71% de taux d'inhibition à 10 minutes. Les intensités des bandes associées aux SOD des bactéries de la phase stationnaire sont en bon accord avec ces mesures, comme l'activité des Fe-SOD s'accroît avec l'augmentation du temps de traitement, tandis que les activités de la Mn-SOD restent

globalement constantes avec le temps, excepté pour un temps de traitement de 5 minutes où son activité est légèrement renforcée.

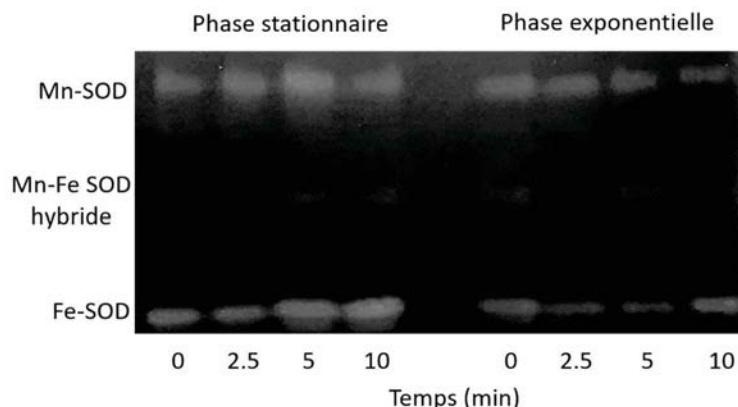


Figure 104 : Zymographie des SOD contenues dans les bactéries issues de la phase exponentielle ou stationnaire exposées au jet de plasma.

La concentration des SOD des bactéries de la phase exponentielle montre une augmentation bien moins importante que les autres bactéries : de 30% (0 minute) à 49% de taux d'inhibition (10 minutes), comme indiqué dans le Tableau 13. Les concentrations des SOD sont toujours plus élevées chez les bactéries de la phase stationnaire. Les activités des SOD ont des comportements plus difficiles à évaluer par rapport aux bactéries de la phase stationnaire comme plusieurs variations sont observées. L'intensité des bandes de la Fe-SOD diminuent de 0 à 5 minutes, avant d'augmenter à 10 minutes jusqu'à revenir à la même activité observée à 0 minute. L'activité de la Mn-SOD diminue au cours du temps. La variation globale de l'activité de ces trois SOD est donc globalement constante, ce qui pourrait expliquer la faible variation de concentration des SOD totales relevée dans le Tableau 13.

Des différences d'activité des enzymes Mn-SOD et Fe-SOD sont observées, alors qu'elles sont toutes deux localisées dans le cytosol des bactéries. Leur nature est initialement différente comme la Mn-SOD est inductible (enzyme synthétisée uniquement en présence du substrat), tandis que la Fe-SOD est constitutive (enzyme synthétisée en continu) [281]. Dans ces mêmes travaux, les *E. coli* ont subi des mutations de manière à ce qu'elles soient incapables de produire l'une de ces deux enzymes, afin de les exposer à des substances chimiques capables de leur infliger des lésions importantes. Leur survie est ensuite mesurée afin d'observer des différences entre les bactéries utilisant uniquement la Mn-SOD pour se défendre, par rapport aux bactéries utilisant uniquement la Fe-SOD. La Mn-SOD a ainsi montré sa plus grande efficacité à protéger l'ADN face à des agents mutagènes [281]. La Fe-SOD est quant à elle plus efficace pour protéger les enzymes cytoplasmiques sensibles à l'anion superoxyde [281].



Dans notre cas, les bactéries de la phase stationnaire indiquent que l'activité en Mn-SOD est peu variable par le traitement par le plasma, tandis que l'activité de la Fe-SOD augmente avec la durée du traitement. Cela pourrait donc signifier que les mécanismes d'inactivation des bactéries de la phase stationnaire sont principalement dus à la modification du contenu cytoplasmique autre que l'ADN. Le cas des bactéries de la phase exponentielle est plus difficile à interpréter comme les variations de l'activité de la Fe-SOD ne suivent pas une évolution linéaire. Il est donc difficile de conclure quant à la façon dont ces bactéries sont inactivées par le plasma. Cependant, *Yost et al.* [252] ont étudié l'importance des Mn-SOD et Fe-SOD sur la viabilité des *E. coli* de la phase exponentielle contenues dans du PBS, après leur exposition au plasma. Pour cela, des bactéries mutantes ont été créées de manière à ce qu'elles expriment uniquement l'une de ces deux SOD. La comparaison des survies bactériennes montre que les bactéries mutantes ne contenant pas la Mn-SOD sont les moins résistantes, tandis que l'absence de Fe-SOD ne modifie pas significativement les survies bactériennes, par rapport au cas où les bactéries sont capables d'exprimer les deux SOD. Dans notre cas, il est donc probable que, tout comme les bactéries de la phase stationnaire, la survie des bactéries de la phase exponentielle soit améliorée grâce à l'activité de la Fe-SOD. Les dommages infligés à ces deux types de bactéries pourraient donc être liés à l'attaque des agents oxydants sur leur contenu cytoplasmique, en-dehors de l'ADN.

## 5. Conclusion

Les traitements des bactéries par des jets de plasma issus des sources asymétrique et symétrique ont montré que, par le plus grand apport d'espèces réactives en phase liquide, la source asymétrique représente la source plasma la plus efficace pour inactiver le plus grand nombre de bactéries. En effet, c'est avec ce plasma que l'optimisation de la production des RONS en phase liquide a été mesurée, d'où son plus grand caractère biocide comparé à la source symétrique. L'utilisation d'une solution tamponnée en pH (PBS) a révélé que traiter des bactéries contenues dans un tel liquide ne permet pas d'atteindre des inactivations aussi importantes que dans la solution saline. Le pH de cette dernière diminue drastiquement avec l'augmentation du temps de traitement, ce qui permet de favoriser la production d'espèces stables sous un pH acide, notamment le radical hydroperoxyde  $\text{HOO}\bullet$ . L'anion radicalaire superoxyde  $\text{O}_2\bullet^-$  est connu pour induire des dommages au niveau de la membrane bactérienne. Le radical hydroperoxyde a cependant une affinité plus grande que sa base conjuguée pour induire ce type de dommage. Ainsi, traiter des bactéries dans des conditions acides pourrait permettre de favoriser l'apparition de radicaux hydroperoxyde, d'où la plus grande inactivation bactérienne observée en solution saline quand le pH devient faible. Le modèle de Geeraerd correspond le mieux à la cinétique de décroissance de la survie bactérienne, donnant ainsi



l'explication sur la façon avec laquelle la décontamination s'opère : un certain temps est nécessaire afin d'homogénéiser les RONS dans tout le liquide. Au-delà de ce temps, l'inactivation suit une loi logarithmique classique. Lors de l'étude de l'influence de la phase des bactéries (exponentielle ou stationnaire) sur la survie bactérienne évaluée par leur capacité respiratoire, il a été montré que les bactéries issues de la phase stationnaire ont tendance à résister plus facilement aux agents oxydants apportés par le plasma pendant les 5 premières minutes du traitement, par rapport à l'autre type de bactérie. Ces bactéries entrent dans l'état VBNC facilement, ce qui a pour conséquence de les rendre plus résistantes, au moins pour un temps. A l'inverse, un traitement plus long a montré une brutale diminution de la survie bactérienne des bactéries de la phase stationnaire, couplée à une pénétration de l'iodure de potassium plus importante, signalant que les bactéries deviennent de plus en plus sensibles aux RONS apportées par le plasma. Les bactéries de la phase exponentielle ont quant à elles un délai d'adaptation correspondant à 2.5 minutes environ où elles subissent des dégâts létaux, avant d'elles aussi entrer dans l'état VBNC, réduisant la quantité de dégâts qu'elles subissent. Comme aucune modification morphologique des bactéries issues des deux phases n'a été observée, même après 20 minutes de traitement, le phénomène d'inactivation principal pourrait être guidé par une diffusion des RONS à travers les membranes, en accord avec l'efficacité biocide renforcée avec l'utilisation de la source asymétrique. Le temps d'adaptation supplémentaire des bactéries de la phase exponentielle, afin de s'acclimater aux conditions stressantes qu'elles subissent, pourrait être lié à la concentration des trois SOD intracellulaires qu'elles contiennent, permettant de désactiver les anions radicalaires superoxyde apportés par le plasma. En effet, cette concentration reste toujours inférieure à celle associée aux bactéries de la phase stationnaire. Dans ce dernier cas, une augmentation de la concentration des SOD, principalement en Fe-SOD d'après la zymographie, a été relevée avec l'augmentation du temps de traitement. Comme l'activité de cette dernière augmente avec le temps, alors que celle associée à la Mn-SOD reste constante, cela signifie que, d'après sa fonction dans la bactérie, les mécanismes à l'origine de l'inactivation des bactéries sont principalement dus à la modification de leur contenu cytoplasmique, autre que l'ADN. Ceci étant valable pour les bactéries de la phase stationnaire, car les SOD contenues dans les bactéries de la phase exponentielle n'ont pas révélé de comportement bien défini. Il est cependant probable que les mécanismes d'inactivation soient similaires entre ces deux types de bactéries.

## Conclusion générale

Cette étude a contribué à mieux comprendre les interactions qui ont lieu entre le jet de plasma et la cible liquide. Pour ce faire, trois grands axes ont guidé les travaux de cette thèse de manière à élucider certains mécanismes décrivant ces interactions. Le principal paramètre de cette étude repose sur la modification de la géométrie de la source, en introduisant une source plasma dite « asymétrique », apportant une réactivité différente de celle proposée par une source plus conventionnelle, appelée « symétrique ».

L'influence de la présence du liquide sous le jet de plasma sur ce dernier a été évaluée de plusieurs manières. La densité et la durée de vie des atomes d'hélium métastable dans le jet de plasma ont été quantifiées en fonction de plusieurs paramètres tels que la géométrie de la source et le débit de gaz. La population de ces métastables fournissent des informations sur la réactivité associée au plasma comme ils peuvent stocker une énergie de 19.8 eV pendant des temps allant de la dizaine de nanosecondes (si le gaz plasmagène n'est pas constitué uniquement d'hélium pur) jusqu'à plusieurs microsecondes (gaz rare pur). L'inversion d'Abel a été utilisée afin d'obtenir des densités et des durées de vie en fonction de la tranche de plasma visée. Dans le cas d'un plasma d'He/O<sub>2</sub>, la source asymétrique semble être la plus apte à maximiser la densité des He<sup>M</sup>, en comparaison à la source symétrique. L'explication la plus plausible repose sur le phénomène de recombinaison des électrons du plasma avec les parois de la source. En effet, lors de l'éloignement des parois, ce qui est le cas avec le réservoir de la source asymétrique, ce phénomène est diminué, augmentant ainsi le nombre d'électron dédié à la production des He<sup>M</sup>, d'où la plus forte densité d'He<sup>M</sup> mesurée dans la source asymétrique. Il a également été montré que le front descendant était à chaque fois le siège d'une plus forte production d'He<sup>M</sup>, probablement grâce au phénomène de préionisation du gaz. En effet, le front descendant suit de 2.5 µs le front montant, alors que ce dernier est séparé de 47.5 µs du front descendant de l'impulsion précédente. Une structure en forme d'anneau est visible au niveau des densités d'He<sup>M</sup> lors de l'augmentation du débit de 0.5 à 2 L.min<sup>-1</sup>. Ceci est le témoin d'un profil d'excitation de la même forme, se rapprochant du cas, relativement bien connu, où de l'hélium pur est utilisé. Cet anneau voit son rayon diminuer avec la diminution du diamètre du tube de sortie, jusqu'à finalement disparaître. Les temps de décroissance sont quant à eux du même ordre de grandeur entre les deux sources, au moins pour un débit de 0.5 L.min<sup>-1</sup>, environ 45 ns. Pour le débit de 2 L.min<sup>-1</sup>, c'est la source symétrique qui produit des He<sup>M</sup> dont les temps de décroissance sont parfois jusqu'à 20 ns plus élevée que ceux associées au plasma de la source asymétrique. L'utilisation d'un débit relativement élevé comme ici permet de rendre le canal de gaz plus pur en mélange He/O<sub>2</sub>, réduisant la quantité d'impuretés provenant de l'air environnant capable de procéder à des phénomènes de quenching des He<sup>M</sup>. Les temps de décroissance sont les témoins de la présence de ces impuretés comme le montre l'étude d'un débit de 2 L.min<sup>-1</sup> (multiplication du débit initial par un facteur 4) permettant de doubler ces temps. Dans

une seconde étude, l'hélium pur remplace le mélange He/O<sub>2</sub>, mettant en évidence un phénomène de saturation apparaissant lors des fronts de l'impulsion, ainsi qu'après quelques microsecondes. Cette saturation survient lorsque l'absorption devient trop élevée, au-delà de 95%, amenant à des calculs de densité d'He<sup>M</sup> erronés. La principale méthode pour contourner le problème de cette forte absorption consiste à obtenir le profil des trois raies d'absorption en modifiant la longueur d'onde du laser. Un profil théorique des trois raies d'absorption est ensuite ajusté au profil expérimental, notamment en utilisant la transition  $2^3S_1 \rightarrow 3^3P_0$ , moins affectée par les fortes absorptions comme sa force d'oscillateur est la plus faible des trois raies. Ce profil théorique renseigne ensuite sur la réelle valeur de la densité des He<sup>M</sup> à l'endroit ciblé.

La production des espèces excitées en phase gazeuse observée par spectroscopie d'émission optique couplée à de l'imagerie rapide filtrée en longueur d'onde, est également plus importante lors de l'utilisation de la source asymétrique. Ces émissions sont majoritairement composées d'hélium, d'oxygène et d'azote. Le suivi spatio-temporel de certaines de ces espèces avec la caméra iCCD a pu mettre en évidence que la répartition des émissions lumineuses dépend de l'espèce considérée. A la sortie de la source, les émissions des espèces du gaz plasmagène telles que He( $3^3S - 2^3P$ ) à 706.5 nm et O( $3^5P - 3^5S$ ) à 777.5 nm sont majoritaires. A l'inverse, les émissions du SPS à 380.5 nm et du FNS de N<sub>2</sub> à 391.4 nm, sont principalement localisées au milieu de la zone entre la sortie de la source et la surface du liquide, signalant un échange d'énergie entre les espèces du gaz et l'air environnant. De plus, le plasma issu du front descendant a une propagation plus rapide que celui du front montant, due là aussi au phénomène de préionisation du gaz plus important lors de l'étude du front descendant, quelle que soit la source utilisée.

Le deuxième volet de cette thèse concerne l'influence inverse, à savoir celle du jet de plasma sur la cible liquide. Les propriétés physico-chimiques de la cible sont modifiées par l'apport des agents oxydants que le plasma est capable de générer. Les espèces réactives telles que les RONS en font partie. Leur création en phase gazeuse est suivie de leur dépôt en phase liquide comme nous l'avons montré avec l'utilisation d'une solution de KI/amidon, révélant le dépôt de différents RONS autour de la zone d'impact entre le jet de plasma et le liquide. Le rôle important de la géométrie de la source dans le dépôt des RONS en phase liquide a été mis en évidence en mesurant leur concentration. A l'instar des espèces excitées et métastables en phase gazeuse, le plasma issu de la source asymétrique fournit la plus grande concentration en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et en NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en phase liquide. Les NO<sub>2</sub><sup>-</sup> sont moins dépendants de la source utilisée comme ils ont tendance à se convertir en NO<sub>3</sub><sup>-</sup> si le pH du liquide est acide, ce qui est le cas après quelques minutes de traitement quelle que soit la source utilisée (après 5 minutes, le pH est de 3.5 environ). Cette conversion s'annule totalement si un milieu tamponné tel que l'eau du robinet est

utilisé. Les plus fortes concentrations des différents RONS avec la source asymétrique peuvent s'expliquer par la présence de son réservoir, provoquant une chimie différente en phase gazeuse (comme vu précédemment) et donc en phase liquide. Il est possible que le plasma dans le réservoir soit le siège de mécanismes réactionnels particuliers par rapport à un tube classique, ce qui expliquerait les différences observées entre les générations des espèces réactives issues de ces deux types de source. La source asymétrique permet de faciliter la dégradation du bleu de méthylène pour la même raison. Des études avec de l'eau du robinet et de l'eau activée par plasma à laquelle le bleu de méthylène est ajouté, ont permis de séparer les différentes contributions des agents oxydants du plasma sur la dégradation du colorant. Il en a été déduit que cette dégradation était principalement dû au pH acide du liquide ainsi qu'aux espèces à courtes durée de vie.

Finalement, l'impact de cette chimie particulière en phase liquide a été déterminé sur des bactéries *E. coli*. Nous nous sommes intéressés à la détermination des mécanismes en jeu lors de l'inactivation des bactéries par le plasma, ainsi qu'aux moyens qu'elles sont capables de mettre en œuvre pour survivre. L'inactivation des bactéries est renforcée avec l'utilisation de la source asymétrique grâce à l'apport plus conséquent d'agents oxydants en phase liquide. Nous avons donc privilégié les effets biocides qu'étaient capables d'offrir cette source. L'utilisation d'une solution tamponnée en pH (comme le PBS) a révélé que traiter des bactéries contenues dans un tel liquide ne permet pas d'atteindre des inactivations aussi importantes que dans la solution saline. Le fait de favoriser les espèces stables sous un pH acide, tel que le radical hydroperoxyde, l'acide conjugué de l'anion superoxyde, permet d'augmenter l'efficacité du traitement comme le radical hydroperoxyde a une affinité renforcée avec les composants des membranes bactériennes, ce qui a pour conséquence de provoquer l'augmentation de l'inactivation bactérienne. Ainsi, cette inactivation doit s'opérer sous un pH acide afin de favoriser tous les phénomènes capables de produire des lésions létales chez les bactéries. L'étude de l'influence de la phase des bactéries, exponentielle (3 heures) ou stationnaire (15 heures) sur la survie bactérienne a été évaluée par deux méthodes : le dénombrement des colonies sur milieu nourrissant et la capacité qu'ont les bactéries à respirer. La différence entre les deux survies évaluées par ces deux méthodes ont permis de mettre en évidence la présence de bactéries dans un état particulier : l'état VBNC. En effet, dans cet état, les bactéries ne forment plus de colonies sur milieu nourrissant alors qu'elles conservent leur activité respiratoire. Ainsi, il a été montré que les bactéries de la phase stationnaire sont capables d'entrer facilement dans l'état VBNC, dès le début du traitement, tandis que les autres bactéries ont besoin d'un délai supplémentaire d'environ 2.5 minutes avant d'entrer dans cet état, après avoir subi des dégâts létaux importants. Par contre, les bactéries de la phase stationnaire subissent des dégâts létaux seulement après 5 minutes de traitement, comme l'indique la forte perméabilisation des membranes de ces bactéries

autour de ce temps. Les bactéries de la phase exponentielle ne présentent quant à elles pas d'évolution, autre que linéaire, au niveau de leur perméabilisation au cours du temps. Le phénomène à l'origine de l'inactivation des bactéries pourrait provenir en majeure partie de la diffusion des RONS à travers les membranes des bactéries, comme l'a montré les images de microscopie électronique à balayage. La mesure des activités des différentes superoxydes dismutases (SOD) (à l'origine de la destruction des anions radicalaires superoxydes) contenues dans les bactéries a révélé que les SOD sont majoritairement présents chez les bactéries de la phase stationnaire. Ceci peut s'expliquer par la nature même de la phase stationnaire qui a forcé les bactéries à déployer des moyens de défense suffisamment efficaces avant que les traitements par plasma soient impliqués. Les bactéries de la phase stationnaire ont en effet plus de facilité à produire des SOD comparé à l'autre phase, quelle que soit le temps de traitement considéré. Finalement, les bactéries de la phase stationnaire ont montré que leur activité en Fe-SOD augmentait avec le temps, alors que la Mn-SOD était peu influencée par ce paramètre et restait donc approximativement constant. Etant donnée la fonction de la Fe-SOD, ce comportement signifie que les mécanismes à l'origine de l'inactivation des bactéries sont principalement dus à la modification de leur contenu cytoplasmique, sans impliquer majoritairement les lésions liées à l'ADN. Les bactéries de la phase exponentielle n'ont quant à elles pas montré des activités particulières de SOD, ce qui ne permet pas à l'heure actuelle de conclure si ces bactéries sont inactivées par les mêmes processus que ceux impliqués chez les bactéries de la phase stationnaire, même si ces processus sont probablement similaires.





## Perspectives

Plusieurs éléments destinés à poursuivre les recherches sont mentionnés dans cette partie.

Comme nous avons pu le voir au cours de l'étude du suivi spatio-temporel des RONS déposés en phase liquide, ainsi que lors de l'inactivation des bactéries, un délai d'environ trois minutes était nécessaire pour que l'ensemble de l'eau traitée soit touchée par la présence des espèces réactives. Ceci peut représenter un problème car tous les polluants de l'eau ne verront pas forcément la même quantité de RONS, donc leur dégradation variera en fonction de leur position dans le liquide (la convection forcée de l'eau par le jet de plasma n'étant pas suffisante pour permettre une homogénéisation rapide du liquide). Cependant, un dispositif utilisant un moteur pour mettre en mouvement le liquide pourrait constituer le moyen de s'affranchir de l'inhomogénéité du traitement. Une plateforme faisant des va-et-vient classiques sur un seul axe suffirait comme la cible est liquide, contrairement à des surfaces solides où une dimension de translation supplémentaire est nécessaire.

La nature de la cible est un paramètre majeur capable d'influencer la physique et la chimie du plasma. Une solution pour s'affranchir de ce problème pourrait être de modifier le fonctionnement de l'alimentation électrique. Plusieurs publications font état d'une alimentation capable de s'adapter à la conductivité de la cible traitée. Ainsi, la dose déposée sur la cible peut être facilement contrôlée par l'opérateur, en plus de réduire considérablement le risque du passage à l'arc. Ce type d'alimentation pourrait se révéler être un atout majeur non seulement lors de la reproductibilité des mesures, mais aussi lors du passage d'une cible à une autre. Avec une telle alimentation, la dépollution de liquide pourrait être menée de la même manière quelle que soit la conductivité du liquide traitée. L'impact sur la production des espèces réactives en phase gazeuse, suivie de leur dépôt en phase liquide, pourrait donc être contrôlé de cette manière. Cela pourrait s'avérer particulièrement utile si les traitements impliquent l'eau du robinet, dont la composition peut changer d'un jour à l'autre.

L'une des originalités de ce travail repose sur l'utilisation d'une source asymétrique. Comme nous l'avons montré, la présence du réservoir a une influence significative sur la génération du plasma et sur tout ce que cela implique au niveau de la cible. La compréhension des mécanismes réactionnels supplémentaires que la présence du réservoir semble apporter, reste encore aujourd'hui inconnue. Une étude intéressante repose sur l'adaptation de la surface de l'électrode de masse (là où se trouve le réservoir de la source asymétrique) de manière à égaliser la surface de cette électrode présente sur la source symétrique. Les prémices de cette étude sont mentionnées dans l'annexe 1. Pour résumer, avec la source asymétrique, la surface de l'électrode a une influence sur l'énergie déposée dans le plasma, tandis que la dégradation du bleu de méthylène n'en est pas affectée. L'hypothèse la plus probable est que le réservoir pourrait retenir le plasma plus longtemps

dans la source, à l'origine de la production d'un panel de RONS plus varié et/ou en plus grande quantité comparé à une source sans réservoir. L'étude des mécanismes de production des espèces dans le réservoir pourrait s'avérer d'une grande aide afin de fabriquer une source dont la géométrie serait optimale de manière à réduire l'énergie consommée et à augmenter la production d'espèces réactives en phase gazeuse. Comme l'intérieur du réservoir est difficilement accessible par des moyens spectroscopiques ou autres, principalement à cause du passage du rayonnement par le verre courbé, une modélisation des mécanismes réactionnels à l'intérieur de la source pourrait permettre de lever cette méconnaissance.

L'ensemble de ce travail s'est concentré sur des sources de plasma ne possédant qu'un seul tube de sortie. L'annexe 2 contient une rapide étude de l'utilisation de source dites « multi-jets » sur la dégradation du bleu de méthylène. L'utilisation de tubes supplémentaires tout en augmentant le débit de manière à conserver un débit identique dans chaque tube de la source multi-jet par rapport à la source classique, est un moyen de faiblement renforcer la dégradation du colorant. Seulement, il reste à savoir si le débit de gaz supplémentaire et la puissance nécessaire à réaliser ces traitements représentent un réel intérêt ou non. A noter que cette étude a été réalisée en ne faisant varier que quelques paramètres alors qu'une étude approfondie pourrait révéler des efficacités bien plus importantes.

D'autres polluants complexes ont été mentionnés au cours de cette thèse, notamment les médicaments. L'annexe 3 regroupe les traitements de la carbamazépine et du paracétamol par le jet de plasma, lorsqu'ils sont introduits indépendamment et en faible quantité dans le liquide. La spectrométrie de masse couplée à de la chromatographie en phase liquide (LC-MS/MS) a permis de montrer que le plasma était capable de dégrader ces composés en produisant des fragments. Cependant, nous ignorons la nature exacte de tous les fragments produits, donc nous n'avons pas d'information quant à leur toxicologie. Dans notre cas le traitement maximal est de 30 minutes, il serait intéressant d'augmenter ce temps afin d'observer l'apparition de fragments de plus en plus petits ou non.

Le contenu protéique des bactéries *E. coli* a été en partie étudié lors de la révélation de l'activité des superoxydes dismutases qui permet de détruire les anions superoxydes. L'étude des catalases pourrait permettre d'apporter des informations cruciales sur les moyens mis en œuvre par les bactéries pour contrer le peroxyde d'hydrogène, formé en grande quantité par le jet de plasma. En particulier, les deux catalases sont exprimées seulement avec les bactéries de la phase stationnaire, tandis qu'une seule des deux l'est en phase exponentielle. Il serait donc intéressant de comprendre l'importance de la présence ou non de cette seconde catalase sur l'inactivation des bactéries de phases différentes.

L'étude des activités des superoxydes dismutases ont donné des éléments de réponse quant à la façon dont les bactéries sont inactivées. Cependant, plusieurs points restent à élucider, notamment la contribution de la SOD hybride Fe-Mn SOD dans les processus de défense des bactéries. Son activité a été révélée grâce à la zymographie des SOD, mais sa faible activité la rend peu documentée dans la littérature quant à son intérêt dans le déploiement des mécanismes de défense que proposent les bactéries. L'annexe 4 présente la zymographie réalisée au cours de ce travail, dont les contrastes ont été amplifiés de manière à visualiser correctement les bandes associées à la SOD hybride.

Comme il a été observé dans cette étude, les bactéries traitées par le plasma sont capables d'entrer dans l'état VBNC suite aux lésions sous-létales que les agents oxydants du plasma sont capables de leur provoquer. Comme 20 minutes de traitement n'est pas suffisant pour inactiver la totalité des bactéries présentent initialement dans l'échantillon, nous pourrions nous intéresser au devenir des bactéries qui sont dans l'état VBNC. En effet, si les conditions le permettent, elles sont capables de recouvrer leur complète activité métabolique. La question de la résistance de ces bactéries réanimées face à de nouveaux traitements par plasma pourrait alors se poser. En effet, nous ne savons pas si ces bactéries vont rester sensibles aux agents oxydants du plasma ou non.

Dans ce travail, seuls des traitements avec des *E. coli* K12 ont été étudiés. Nous pourrions alors nous demander si les mêmes réponses et mécanismes sont engagés chez les autres bactéries à Gram négatif ou chez les bactéries à Gram positif. De plus, comme la structure des bactéries à Gram positif est fondamentalement différente de celles des bactéries à Gram négatif, les effets du plasma pourraient là-aussi être totalement différents de ceux énoncés dans ce travail.

## Annexes

## Annexe 1 : Influence de la surface de l'électrode de masse

Une partie importante de ce travail reposait sur la comparaison de deux sources plasma au niveau de la production d'espèces en phase gazeuse (espèces excitées et atomes d'hélium métastables) et en phase liquide (RONS), afin de mieux comprendre les effets de la géométrie de la source plasma sur le traitement d'un liquide.

Cependant, lors du passage de la source symétrique à la source asymétrique, la largeur de l'électrode de masse a été conservée, tout comme la distance inter-électrode. Nous pourrions donc nous demander ce qu'il adviendrait des propriétés du plasma lorsque cette fois-ci le paramètre constant entre les deux sources serait la surface de l'électrode de masse. Une première approche a été réalisée en diminuant la surface de cette électrode au niveau de la source asymétrique, de manière à égaliser celle de la source symétrique. L'électrode a été placée au niveau du bord inférieur du réservoir, juste avant la jonction entre le réservoir et le tube de sortie telle que représentée sur la Figure 105.

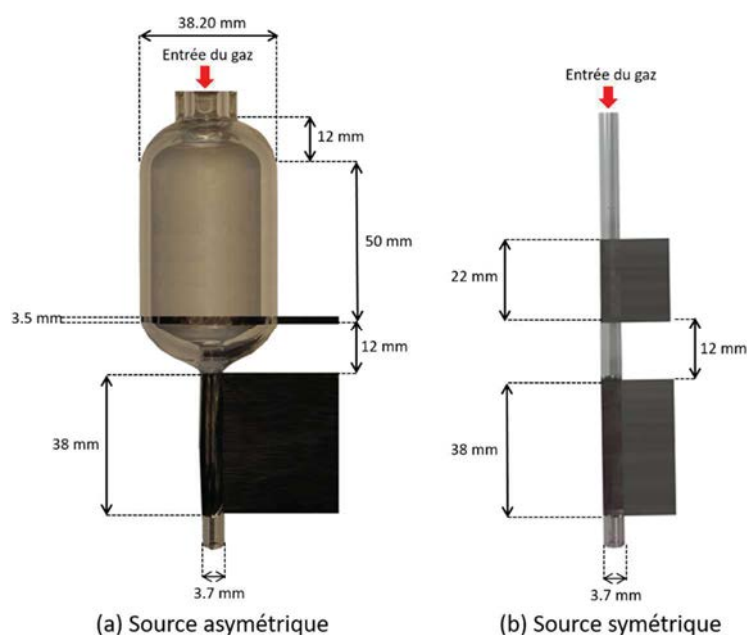


Figure 105 : Photographies de la source a) asymétrique et de la source b) symétrique lorsque les deux électrodes de masse ont la même surface.

Des mesures électriques sont réalisées en faisant varier la tension injectée aux bornes des trois différentes sources (asymétrique avec l'électrode de masse classique, asymétrique avec la petite électrode de masse et symétrique) afin de constater les différences d'énergies déposées dans le plasma après chaque impulsion. Ces énergies sont représentées sur la Figure 106.

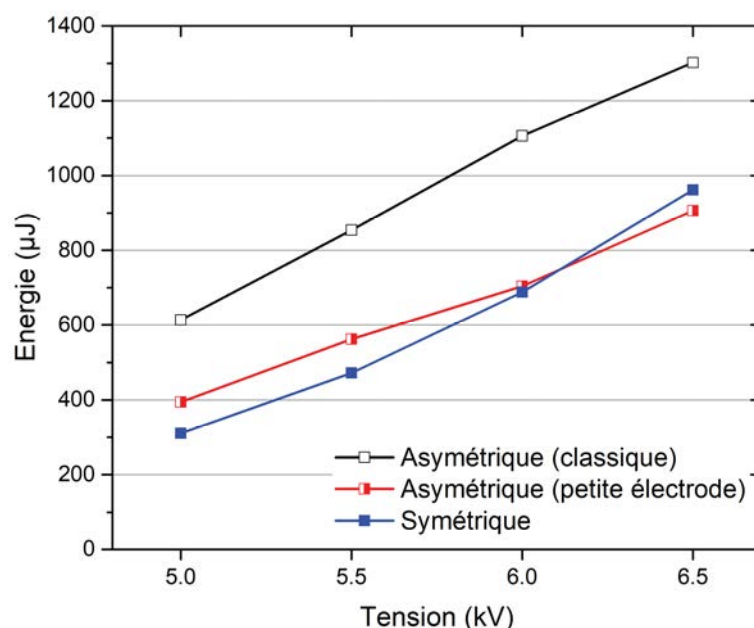


Figure 106 : Energies déposées dans le plasma issu de la source asymétrique (classique ou petite électrode de masse) et de la source symétrique, en fonction de la tension appliquée. La durée des impulsions est de  $2.5 \mu\text{s}$ .

Nous pouvons ainsi remarquer que l'énergie déposée dans les plasmas issus de la source asymétrique avec la petite électrode de masse et de la source symétrique sont très proches. Les quelques écarts relevés entre ces couples d'énergies pourraient provenir de la découpe de l'électrode de masse de la source asymétrique qui est relativement délicate comme sa largeur est de seulement 3.5 mm. L'énergie associée à la source asymétrique dite « classique » est quant à elle toujours plus élevée que les deux autres, de 100 à 200  $\mu\text{J}$ , selon la tension appliquée. Cela signifie que la surface de l'électrode de masse est un paramètre qui conditionne l'énergie déposée dans la décharge, peu importe la géométrie de la source. Une surface d'électrode de masse plus grande pourrait donc impliquer un dépôt d'énergie plus grand dans le plasma.

Cependant, les mécanismes réactionnels qui participent à la formation du plasma sont quant à eux bien spécifiques à la géométrie de la source utilisée, et non à la surface de cette électrode. Un témoin de ces mécanismes est mis en avant par l'étude de la dégradation du bleu de méthylène dans la cible liquide située sous le jet de plasma. Ce colorant a en effet été traité pendant 5 minutes par les trois différentes sources, lorsque la tension varie de 5 à 6.5 kV. La décoloration du bleu de méthylène est représentée sur la Figure 107.



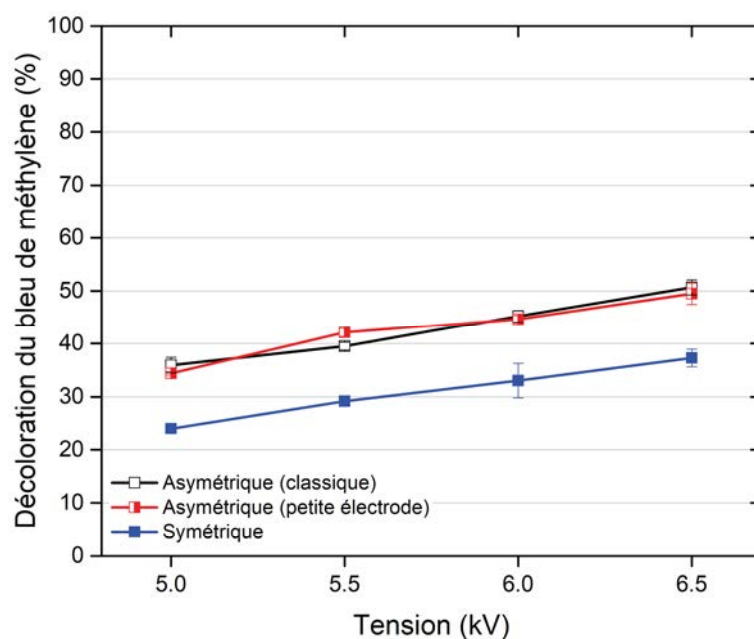


Figure 107 : Effets de la tension appliquée sur la dégradation du bleu de méthylène lorsque la source asymétrique (classique et petite électrode de masse) et la source symétrique sont utilisées. La durée de chaque traitement est de 5 minutes, la durée des impulsions est de  $2.5 \mu\text{s}$  et leur fréquence est de 20 kHz.

Ainsi, la valeur de la surface de l'électrode de masse semble avoir très peu d'influence sur la disparition de ce colorant. En effet, les deux sources asymétriques provoquent des décolorations pratiquement identiques dans les mêmes conditions, tandis que l'utilisation de la source symétrique engendre une diminution de la dégradation d'une dizaine de pourcents par rapport aux deux autres sources.

Nous pourrions donc imaginer que la présence du réservoir de la source asymétrique permet de laisser une plus grande place au plasma pour se développer, réduisant la probabilité que la recombinaison électron/paroi survienne. Ceci est cependant en contradiction avec les mesures énergétiques représentées sur la Figure 106 où a été soulignée l'importance de la surface de l'électrode de masse, mais pas de la géométrie de la source, dans la valeur de l'énergie déposée dans le plasma. Il est probable que les électrons se recombinent plus facilement à la paroi lorsque la surface de l'électrode de masse est petite, et non à cause de la géométrie de la source.

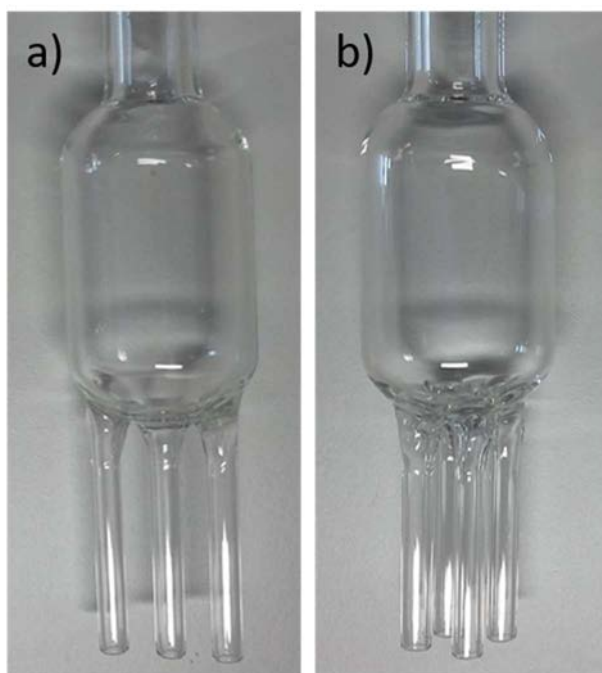
Une autre hypothèse expliquant la meilleure dégradation du colorant avec la source asymétrique repose sur l'importance de la présence du réservoir au niveau de son électrode de masse. Il permet d'abaisser la vitesse de propagation du gaz dans la source, provoquant l'apparition d'un plasma contenant probablement une quantité et une variété d'espèces différentes par rapport à la source symétrique. Un calcul simplifié a déjà été rédigé pour expliquer la différence entre les densités des  $\text{He}^M$  issues des deux plasmas des

deux sources. Brièvement, pour un débit initial de  $0.5 \text{ L.min}^{-1}$ , le débit de gaz dans le réservoir est de  $0.66 \text{ cm.s}^{-1}$ . Comme la hauteur de plasma au niveau du réservoir est d'environ 3.5 cm, une même portion de gaz subira 35000 impulsions avant de sortir du réservoir et rentrer dans la partie inférieure de la source. Dans la source symétrique, pour une hauteur de plasma de 6 cm au niveau de l'électrode de masse et une vitesse de  $66 \text{ cm.s}^{-1}$ , une même portion de gaz subira seulement 200 impulsions. Le gaz dans la source asymétrique est donc le siège de mécanismes réactionnels différents par rapport à la source symétrique, ce qui pourrait expliquer la différence de dégradation du bleu de méthylène lors du changement de la géométrie de la source.

## Annexe 2 : Etude de sources multi-jets

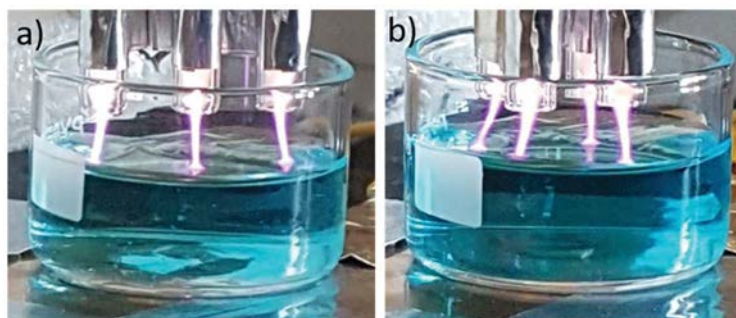
Jusqu'à présent les sources utilisées ne possédaient qu'une seule sortie, permettant la création d'un seul jet à la fois. Comme la configuration associée à la source asymétrique a montré son fort caractère oxydant, la question reposant sur l'augmentation du nombre de jet de plasma et de leurs effets sur une cible liquide peut ainsi être envisagée. L'augmentation du volume du plasma, donc l'augmentation de la surface de contact entre le plasma, l'air environnant et la cible traitée, est un paramètre clé dans l'optimisation de la production d'espèces réactives en phase gazeuse et en phase liquide.

Afin de répondre à cette question, deux nouvelles sources ont été fabriquées : une source avec trois tubes de sortie et une autre avec quatre tubes de sortie. Une seule et même électrode haute tension relie tous les tubes d'une source. Les photographies de ces deux sources sont représentées sur la Figure 108.



*Figure 108 : Photographies des sources asymétriques avec a) trois et b) quatre tubes de sortie. L'écart entre les bords de deux tubes consécutifs est égal à 6 mm quelle que soit la source.*

Pour une tension de 6 kV, une durée d'impulsion de 2.5  $\mu$ s et une fréquence de 20 kHz, le plasma s'allume dans tous les tubes de toutes les sources. Un phénomène particulier survient lorsque les sources multi-jets sont utilisées : les jets de plasma se repoussent entre eux de manière à faire apparaître des jets ne suivant pas la verticalité des tubes. A titre d'exemple, des photographies de ces interactions entre les jets au voisinage d'une cible liquide sont montrées sur la Figure 109.



*Figure 109 : Photographies des jets de plasma se repoussant au voisinage d'une cible liquide pour la source à a) trois jets et b) quatre jets.*

Plusieurs publications font état de ce phénomène en invoquant le repoussement des charges électriques entourant les jets de plasma, les faisant ainsi diverger [282]–[284]. D'autres sources plasma montrent cependant des jets de plasma ne se repoussant pas du tout [178], [285], [286], voire se fusionnant en un seul et même jet de plasma selon le débit utilisé [287]. Ces différences sont difficiles à interpréter comme les décharges ne sont pas toutes générées de la même manière (gaz, alimentations, débits différents). Il semblerait cependant que ces différents comportements proviennent de la distance séparant les tubes et de leur diamètre de sortie.

Les plasmas issus des sources asymétriques à une, trois ou quatre sorties, ont été utilisés afin d'observer leurs effets sur une solution contenant du bleu de méthylène. Les résultats sont montrés sur la Figure 110. La tension est fixée à 6 kV et la durée de traitement est de 5 minutes. Le débit indiqué correspond au débit injecté dans l'ensemble de la source. Par exemple, un débit de 2 L.min<sup>-1</sup> injecté dans la source à quatre tubes signifie que chaque tube de sortie est traversé par 0.5 L.min<sup>-1</sup> de gaz. Dans ce cas, dans la source à trois tubes, chaque tube verra un débit de 0.67 L.min<sup>-1</sup>. Un débit de 1.5 L.min<sup>-1</sup> a donc également été choisi de manière à injecter 0.5 L.min<sup>-1</sup> dans chaque tube de la source à trois sorties, ceci dans le but de comparer les jets de plasma entre les différentes sources.

Un effet intéressant est ici mis en avant : la décoloration du bleu de méthylène est légèrement renforcée avec l'utilisation de plusieurs jets de plasma lorsque le débit de gaz est ajusté de manière à ce que chaque tube reçoive 0.5 L.min<sup>-1</sup>. Plus le nombre de tube de sortie recevant chacun 0.5 L.min<sup>-1</sup> est augmenté, plus le traitement plasma est efficace. Il faut tout de même tenir compte de la quantité de gaz consommée comme l'utilisation de la source avec quatre tubes permet de décolorer « seulement » 5% de colorant supplémentaire, par rapport au traitement classique avec un seul tube de sortie et un débit quatre fois moins élevé.

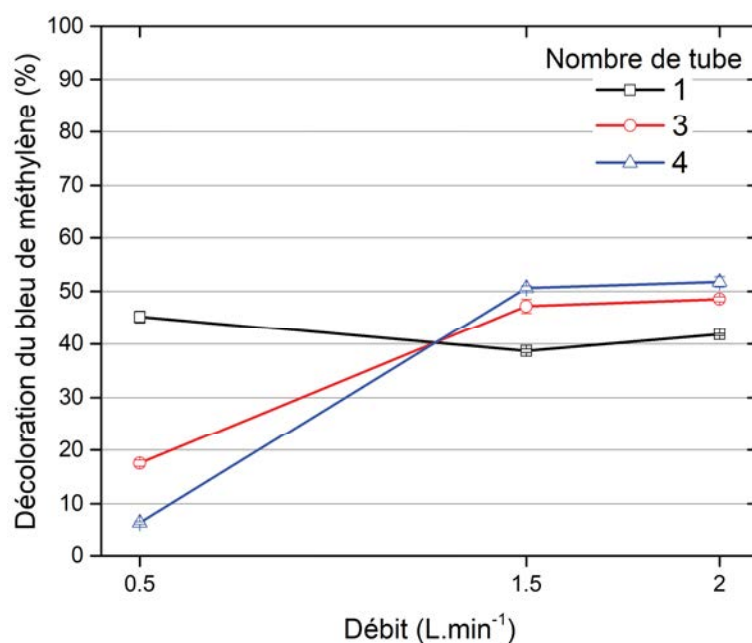


Figure 110 : Effets du débit total et du nombre de tube de sortie sur la dégradation du bleu de méthylène. La durée de chaque traitement est de 5 minutes.

D'autres mesures sont à prévoir afin de vérifier si le temps de traitement choisi ici (5 minutes) est suffisamment élevé pour que des différences de décoloration soient effectivement visibles entre les trois sources. De plus, la distance séparant chaque tube d'une même source a été choisie de manière à ce que le plasma occupe une large zone au-dessus de la surface du liquide. Rapprocher la distance séparant les tubes de sortie pourrait s'avérer plus efficace que les configurations actuelles, de manière à fusionner tous les plasmas issus des différents tubes en un seul et même jet de plasma.

### **Annexe 3 : Dégradation des médicaments dans l'eau**

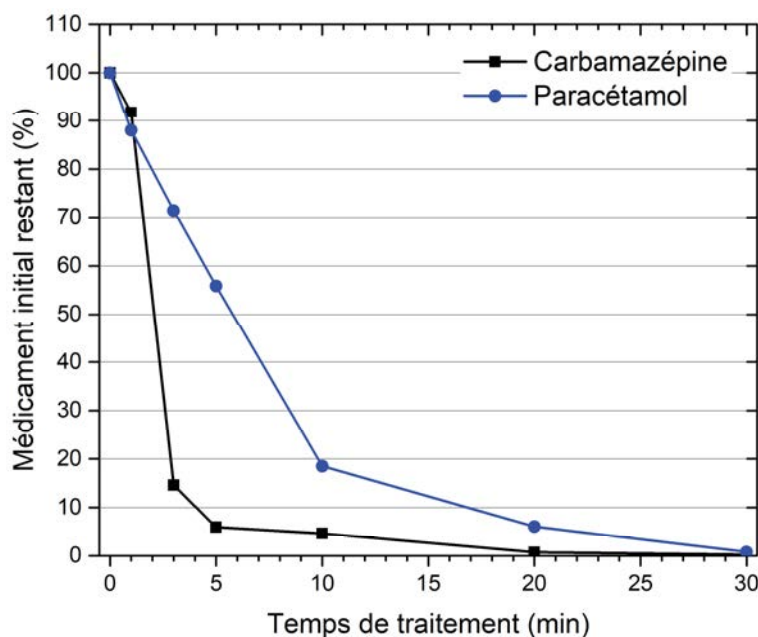
Deux médicaments (carbamazépine et paracétamol) ont été introduit dans la cible liquide afin d'étudier leurs dégradations en présence des espèces oxydantes générées par le jet de plasma. Dans cette étude, seule la source asymétrique a été utilisée. Les médicaments et leurs résidus ont été identifiés grâce à la spectrométrie de masse couplée à de la chromatographie en phase liquide.

Pour réaliser les mesures du taux de dégradation des médicaments, les échantillons traités par plasma ont été emmenés au Laboratoire de Chimie de Coordination (LCC) de l'université de Toulouse afin d'utiliser un spectromètre de masse en tandem couplé à de la chromatographie en phase liquide (LC-MS/MS). Ces mesures ont été effectuées en collaboration avec Catherine Claparols. Le couplage entre la chromatographie liquide haute performance et la spectrométrie de masse permet de mieux séparer et d'identifier les constituants de l'échantillon. La source permettant de vaporiser l'échantillon à l'entrée du spectromètre est un ESI (electrospray ionization) car son affinité avec les molécules polaires et très polaires (dont font partis les médicaments ionisés utilisés dans ce travail) est très bonne. Le spectromètre de masse utilisé est équipé d'un quadripôle de manière à sélectionner les ions possédant un rapport masse/charge précis.

La carbamazépine, dont la masse molaire est de  $237 \text{ g.mol}^{-1}$ , est connu pour faire apparaître un fragment de masse molaire  $194 \text{ g.mol}^{-1}$ . Nous adaptons ainsi la tension appliquée au niveau du quadripôle pour sélectionner ce couple de médicament initial et de fragment. De même pour le paracétamol ( $151.9 \text{ g.mol}^{-1}$ ), nous cherchons à observer les fragments correspondant à des masses molaires de  $109.9 \text{ g.mol}^{-1}$  et de  $92.9 \text{ g.mol}^{-1}$ . Le choix de tous ces fragments a été fait selon des précédentes études réalisées en amont de ce travail, prouvant que les dégradations de la carbamazépine et du paracétamol se réalisaient la plupart du temps selon le même schéma, c'est-à-dire en faisant apparaître les fragments énoncés précédemment. Ainsi, pour connaître la quantité de médicament dégradé, nous effectuons le rapport de l'aire du pic de l'élément de départ avec l'aire du pic de son fragment. Ces aires sont obtenues grâce aux spectres de masse.

Les deux médicaments ont été introduits séparément dans des cibles liquides de manière à ce qu'une cible liquide contienne une concentration de carbamazépine de  $100 \mu\text{g.L}^{-1}$  alors qu'une autre contienne du paracétamol à  $100 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Le choix des médicaments et de leur concentration ont été choisis de manière à refléter la réelle concentration de ces deux composés dans les eaux des rivières en Europe notamment [288].

Le pourcentage de médicament restant dans la cible liquide, déterminé par la méthode utilisant les rapports des aires énoncée précédemment, est représenté sur la Figure 111.



*Figure 111 : Pourcentage de carbamazépine et de paracétamol restant dans la cible liquide en fonction du temps de traitement de la cible par le jet de plasma.*

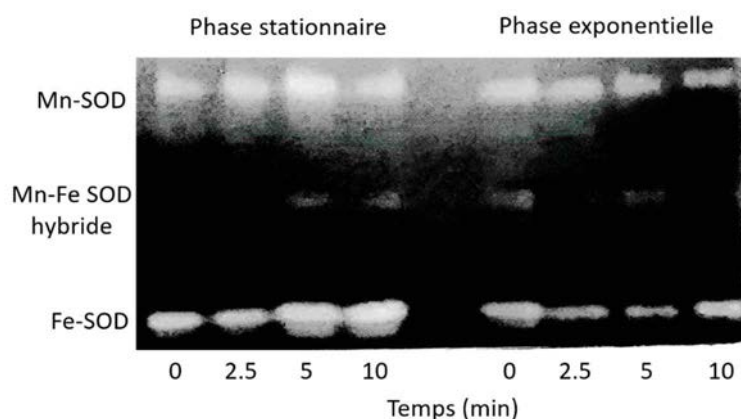
Un traitement d'une trentaine de minutes est nécessaire pour réduire la quantité de carbamazépine et de paracétamol présents dans les échantillons traités d'environ 99%.

Des études plus poussées doivent être effectuées afin de comprendre le devenir des médicaments après qu'ils soient fragmentés. En effet, à ce stade nous ne savons pas ce qu'il advient des fragments pendant le traitement par le jet de plasma. La résistance de ces fragments au plasma doit donc être étudiée, ainsi que leur toxicité sur l'homme et sur l'environnement afin d'être certain de ne pas produire des molécules plus dangereuses que les molécules initiales.



## Annexe 4 : Zymographie des SOD, Mn-Fe SOD hybride

La zymographie effectuée au cours de ce travail a permis de révéler les variations de l'activité des Mn-SOD et Fe-SOD, en fonction de la phase des bactéries et du temps de traitement par plasma. L'ajustement du contraste de la photo où apparaît la zymographie constitue toujours une étape délicate comme certaines activités sont faibles alors que d'autres sont fortes. Ainsi, un contraste peut être adapté afin de révéler certaines activités plutôt que d'autres. Au cours de ce travail, le contraste de l'image a été adapté de manière à observer les activités d'intérêts, à savoir celles provenant des Mn-SOD et Fe-SOD. Cependant, une autre bande apparaît à mi-distance entre ces deux enzymes, il s'agit de la Mn-Fe SOD hybride, telle que représentée sur la Figure 112. Les temps indiqués correspondent aux durées des expositions des bactéries par le plasma.



*Figure 112 : Zymographie des SOD contenues dans les bactéries issues de la phase exponentielle ou stationnaire exposées au jet de plasma. Le contraste de l'image est accentué afin de faire apparaître avec suffisamment de clarté les bandes correspondant à la Mn-Fe SOD hybride.*

La propriété de la SOD hybride est une combinaison des propriétés associées aux Fe-SOD et Mn-SOD. En effet, *Clare et al.* [277] ont montré qu'après ajout d'une même concentration en  $H_2O_2$  (connu pour désactiver la Fe-SOD, mais pas la Mn-SOD) sur les trois SOD séparées, l'activité de la SOD hybride se comportait comme une combinaison entre les activités des deux autres SOD.

L'activité de la Mn-Fe SOD hybride est très faible comparée aux deux autres SOD, quel que soit le temps de traitement ou la phase des bactéries. Son activité est généralement peu étudiée comme elle est très faible parmi l'ensemble de toutes les contributions des SOD [277], [280].



## Références

- [1] Décisions du 11 avril 2000 interdisant, en application des articles L. 552, L. 556, R. 5055 à R. 5055-6 du code de la santé publique, des publicités pour des objets, appareils ou méthodes présentés comme bénéfiques pour la santé lorsqu'il n'est pas établi que lesdits objets, appareils ou méthodes possèdent les propriétés annoncées.
- [2] « OMS | Directives de qualité pour l'eau de boisson: Quatrième édition intégrant le premier additif », WHO. [En ligne]. Disponible sur: [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/publications/drinking-water-quality-guidelines-4-including-1st-addendum/fr/](http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/drinking-water-quality-guidelines-4-including-1st-addendum/fr/). [Consulté le: 11-avr-2019].
- [3] « Les stations d'épuration ciblent les micropolluants », Les Echos, 12-avr-2007. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.lesechos.fr/2007/04/les-stations-depuration-ciblent-les-micropolluants-527239>. [Consulté le: 31-mai-2019].
- [4] J.-M. Choubert et al., « Élimination des micropolluants par les stations d'épuration domestiques », Sci. Eaux Territ., vol. Numéro 9, n° 4, p. 6-15, 2012.
- [5] J. Bylund, J. Toljander, M. Lysén, N. Rasti, J. Engqvist, et M. Simonsson, « Measuring sporadic gastrointestinal illness associated with drinking water – an overview of methodologies », J. Water Health, vol. 15, n° 3, p. 321-340, juin 2017.
- [6] J. P. S. Cabral, « Water Microbiology. Bacterial Pathogens and Water », Int. J. Environ. Res. Public. Health, vol. 7, n° 10, p. 3657-3703, oct. 2010.
- [7] A. Houas, H. Lachheb, M. Ksibi, E. Elaloui, C. Guillard, et J.-M. Herrmann, « Photocatalytic degradation pathway of methylene blue in water », Appl. Catal. B Environ., vol. 31, n° 2, p. 145-157, mai 2001.
- [8] V. Chander et al., « Pharmaceutical Compounds in Drinking Water », J. Xenobiotics, vol. 6, n° 1, juin 2016.
- [9] W.-T. Tsai, « Trends in the Use of Glyphosate Herbicide and Its Relevant Regulations in Taiwan: A Water Contaminant of Increasing Concern », Toxics, vol. 7, n° 1, janv. 2019.
- [10] S. M. Rodrigues et P. F. A. M. Römken, « Chapter 9 - Human Health Risks and Soil Pollution », in Soil Pollution, A. C. Duarte, A. Cachada, et T. Rocha-Santos, Éd. Academic Press, 2018, p. 217-250.
- [11] T. Garg, S. E. Hamilton, J. P. Hochard, E. P. Kresch, et J. Talbot, « (Not so) gently down the stream: River pollution and health in Indonesia », J. Environ. Econ. Manag., vol. 92, p. 35-53, nov. 2018.
- [12] M. Kumar, G. Singh, T. Chaminda, P. Van Quan, et K. Kuroda, « Emerging Water Quality Problems in Developing Countries », Sci. World J., vol. 2014, 2014.
- [13] I. A. A, A. B. O, O. AbimbolaP, A.-A. T. A, D. A. O, et O. ToyinA, « Water Pollution: Effects, Prevention, and Climatic Impact », Water Chall. Urban. World, mars 2018.
- [14] M. des S. et de la Santé et M. des S. et de la Santé, « Qualité de l'eau potable », Ministère des Solidarités et de la Santé, 10-avr-2019. [En ligne]. Disponible sur:

- <https://solidarites-sante.gouv.fr/sante-et-environnement/eaux/article/qualite-de-l-eau-potable>. [Consulté le: 11-avr-2019].
- [15] M. Hijosa-Valsero, V. Matamoros, J. Martín-Villacorta, E. Bécares, et J. M. Bayona, « Assessment of full-scale natural systems for the removal of PPCPs from wastewater in small communities », *Water Res.*, vol. 44, n° 5, p. 1429-1439, mars 2010.
- [16] G. M. Geise, H.-S. Lee, D. J. Miller, B. D. Freeman, J. E. McGrath, et D. R. Paul, « Water purification by membranes: The role of polymer science », *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.*, vol. 48, n° 15, p. 1685-1718, 2010.
- [17] A. Lee, J. W. Elam, et S. B. Darling, « Membrane materials for water purification: design, development, and application », *Environ. Sci. Water Res. Technol.*, vol. 2, n° 1, p. 17-42, 2016.
- [18] G. Pearce, « Introduction to membranes: Filtration for water and wastewater treatment », *Filtr. Sep.*, vol. 44, n° 2, p. 24-27, mars 2007.
- [19] C. Ursino, R. Castro-Muñoz, E. Drioli, L. Gzara, M. H. Albeirutty, et A. Figoli, « Progress of Nanocomposite Membranes for Water Treatment », *Membranes*, vol. 8, n° 2, avr. 2018.
- [20] N. R. Council, *Identifying Future Drinking Water Contaminants*. 1999.
- [21] S. Ahuja, *Comprehensive Water Quality and Purification*. 2013.
- [22] M. SISTI, G. F. SCHIAVANO, M. D. SANTI, et G. BRANDI, « Ultraviolet germicidal irradiation in tap water contaminated by *Aspergillus* spp », *J. Prev. Med. Hyg.*, vol. 58, n° 4, p. E315-E319, déc. 2017.
- [23] H. Dizer, W. Bartocha, H. Bartel, K. Seidel, J. M. Lopez-Pila, et A. Grohmann, « Use of ultraviolet radiation for inactivation of bacteria and coliphages in pretreated wastewater », *Water Res.*, vol. 27, n° 3, p. 397-403, mars 1993.
- [24] M. J. Sharrer, S. T. Summerfelt, G. L. Bullock, L. E. Gleason, et J. Taeuber, « Inactivation of bacteria using ultraviolet irradiation in a recirculating salmonid culture system », *Aquac. Eng.*, vol. 33, n° 2, p. 135-149, août 2005.
- [25] K. Skowron, J. Bauza-Kaszewska, Z. Dobrzański, Z. Paluszak, et K. J. Skowron, « UV-C Radiation as a Factor Reducing Microbiological Contamination of Fish Meal », *Sci. World J.*, vol. 2014, janv. 2014.
- [26] J. A. Crump, P. M. Griffin, et F. J. Angulo, « Bacterial contamination of animal feed and its relationship to human foodborne illness », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 35, n° 7, p. 859-865, oct. 2002.
- [27] K. G. Maciorowski, P. Herrera, F. T. Jones, S. D. Pillai, et S. C. Ricke, « Effects on poultry and livestock of feed contamination with bacteria and fungi », *Anim. Feed Sci. Technol.*, vol. 133, n° 1, p. 109-136, févr. 2007.
- [28] J. R. Wright, S. S. Sumner, C. R. Hackney, M. D. Pierson, et B. W. Zoecklein, « Efficacy of ultraviolet light for reducing *Escherichia coli* O157:H7 in unpasteurized apple cider », *J. Food Prot.*, vol. 63, n° 5, p. 563-567, mai 2000.

- [29] K. M. Johnson<sup>1</sup>, M. R. A. Kumar<sup>2</sup>, et P. P. and B. M. Gananamangai<sup>3\*</sup>, « Ultraviolet Radiation and its Germicidal Effect in Drinking Water Purification », *J. Phytol.*, août 2010.
- [30] M. A. Oturan et J.-J. Aaron, « Advanced Oxidation Processes in Water/Wastewater Treatment: Principles and Applications. A Review », *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, vol. 44, n° 23, p. 2577-2641, déc. 2014.
- [31] L. G. Covinich, D. I. Bengoechea, R. J. Fenoglio, et M. C. Area, « Advanced Oxidation Processes for Wastewater Treatment in the Pulp and Paper Industry: A Review », *Am. J. Environ. Eng.*, vol. 4, n° 3, p. 56-70, 2014.
- [32] J. Rodríguez-Chueca, M. P. Ormad Melero, R. Mosteo Abad, J. Esteban Finol, et J. L. Ovelleiro Narvi  n, « Inactivation of *Escherichia coli* in fresh water with advanced oxidation processes based on the combination of O<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, and TiO<sub>2</sub>. Kinetic modeling », *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, vol. 22, n° 13, p. 10280-10290, juill. 2015.
- [33] E. A. Publishers, *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences, Chemistry*. Estonian Academy Publishers, 2001.
- [34] R. M. Wheaton et R. E. Anderson, « Industrial applications of ion exchange resins », *J. Chem. Educ.*, vol. 35, n° 2, p. 59,   vr. 1958.
- [35] K. Brezinski, B. Gorczyca, et M. Sadrnourmohammadi, « Ion-exchange for trihalomethane control in potable water treatment – a municipal water treatment case study in Rainy River, Ontario, Canada », *Water Qual. Res. J.*, vol. 54, n° 2, p. 142-160, mai 2019.
- [36] A. Lalmi, K.-E. Bouhidel, B. Sahraoui, et C. el H. Anfif, « Removal of lead from polluted waters using ion exchange resin with Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> for elution », *Hydrometallurgy*, vol. 178, p. 287-293, juin 2018.
- [37] J. Kim et M. M. M. M. Benjamin, « Modeling a novel ion exchange process for arsenic and nitrate removal », *Water Res.*, vol. 38, n° 8, p. 2053-2062, avr. 2004.
- [38] A. Tor, « Removal of fluoride from water using anion-exchange membrane under Donnan dialysis condition », *J. Hazard. Mater.*, vol. 141, n° 3, p. 814-818, mars 2007.
- [39] « ion-exchange », Easy Grow Ltd. .
- [40] « Plasma Physics -- History ». [En ligne]. Disponible sur: <https://www-spof.gsfc.nasa.gov/Education/whplasma.html>. [Consulté le: 05-déc-2017].
- [41] « Marconi, radio waves, and the ionosphere - Beynon - 1975 - Radio Science - Wiley Online Library ». [En ligne]. Disponible sur: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1029/RS010i007p00657/full>. [Consulté le: 05-déc-2017].
- [42] « The Ultra-Violet Ray. », *Auckland Star*, p. 5, 27-mai-1920.
- [43] « Holo Electron ». [En ligne]. Disponible sur: <https://holoelectron.com/>. [Consulté le: 31-mai-2019].

- [44] D. B. Graves, « Lessons From Tesla for Plasma Medicine », IEEE Trans. Radiat. Plasma Med. Sci., vol. 2, n° 6, p. 594-607, nov. 2018.
- [45] J. Y. Jeong et al., « Etching materials with an atmospheric-pressure plasma jet », Plasma Sources Sci. Technol., vol. 7, n° 3, p. 282, 1998.
- [46] K. Fricke, H. Steffen, T. von Woedtke, K. Schröder, et K.-D. Weltmann, « High Rate Etching of Polymers by Means of an Atmospheric Pressure Plasma Jet », Plasma Process. Polym., vol. 8, n° 1, p. 51-58, janv. 2011.
- [47] Y. Wu, P. Qiao, T. Chong, et Z. Shen, « Carbon Nanowalls Grown by Microwave Plasma Enhanced Chemical Vapor Deposition », Adv. Mater., vol. 14, n° 1, p. 64-67, janv. 2002.
- [48] M. Chhowalla et al., « Growth process conditions of vertically aligned carbon nanotubes using plasma enhanced chemical vapor deposition », J. Appl. Phys., vol. 90, n° 10, p. 5308-5317, oct. 2001.
- [49] F. R. C. Díaz, « An overview of the VASIMR engine: High power space propulsion with RF plasma generation and heating », AIP Conf. Proc., vol. 595, n° 1, p. 3-15, oct. 2001.
- [50] E. Ahedo, « Plasmas for space propulsion », Plasma Phys. Control. Fusion, vol. 53, n° 12, p. 124037, 2011.
- [51] S. Barbosa et al., « Influence of nanosecond repetitively pulsed discharges on the stability of a swirled propane/air burner representative of an aeronautical combustor », Philos. Transact. A Math. Phys. Eng. Sci., vol. 373, n° 2048, août 2015.
- [52] Y. Ju et W. Sun, « Plasma assisted combustion: Dynamics and chemistry », Prog. Energy Combust. Sci., vol. 48, n° Supplement C, p. 21-83, juin 2015.
- [53] A. Brisset et al., « Modification of the electric field distribution in a diffuse streamer-induced discharge under extreme overvoltage », Plasma Sources Sci. Technol., vol. 28, n° 5, p. 055016, mai 2019.
- [54] D. B. Graves, « Low temperature plasma biomedicine: A tutorial review », Phys. Plasmas, vol. 21, n° 8, p. 080901, août 2014.
- [55] K.-D. Weltmann et T. von Woedtke, « Plasma medicine—current state of research and medical application », Plasma Phys. Control. Fusion, vol. 59, n° 1, p. 014031, 2017.
- [56] V. Scholtz, J. Pazlarova, H. Souskova, J. Khun, et J. Julak, « Nonthermal plasma — A tool for decontamination and disinfection », Biotechnol. Adv., vol. 33, n° 6, Part 2, p. 1108-1119, nov. 2015.
- [57] B. A. Niemira, « Cold plasma decontamination of foods », Annu. Rev. Food Sci. Technol., vol. 3, p. 125-142, 2012.
- [58] J.-M. Rax, Physique des plasmas: Cours et applications. Dunod, 2005.
- [59] S. S. Rath, P. Nayak, P. S. Mukherjee, G. Roy Chaudhury, et B. K. Mishra, « Treatment of electronic waste to recover metal values using thermal plasma



- coupled with acid leaching – A response surface modeling approach », *Waste Manag.*, vol. 32, n° 3, p. 575-583, mars 2012.
- [60] L. Rao, F. Rivard, et P. Carabin, « Thermal Plasma Torches for Metallurgical Applications », in *4th International Symposium on High-Temperature Metallurgical Processing*, T. Jiang, J.-Y. Hwang, P. J.ckey, O. Yucel, et G. Zhou, Éd. John Wiley & Sons, Inc., 2013, p. 57-65.
- [61] Y. Byun, M. Cho, S.-M. Hwang, et J. Chung, « Thermal Plasma Gasification of Municipal Solid Waste (MSW) », 2012.
- [62] H. Huang et L. Tang, « Treatment of organic waste using thermal plasma pyrolysis technology », *Energy Convers. Manag.*, vol. 48, n° 4, p. 1331-1337, avr. 2007.
- [63] K. Wiesemann, « A Short Introduction to Plasma Physics », *ArXiv14040509 Phys.*, avr. 2014.
- [64] B. Eliasson et U. Kogelschatz, « Nonequilibrium volume plasma chemical processing », *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 19, n° 6, p. 1063-1077, déc. 1991.
- [65] C. Lao, J. Cotrino, A. Palmero, A. Gamero, et A. R. González-Elipe, « Electron temperature measurement in a surface-wave-produced argon plasma at intermediate pressures », *Eur. Phys. J. - At. Mol. Opt. Plasma Phys.*, vol. 14, n° 3, p. 361-366, juin 2001.
- [66] S. Förster, C. Mohr, et W. Viöl, « Investigations of an atmospheric pressure plasma jet by optical emission spectroscopy », *Surf. Coat. Technol.*, vol. 200, n° 1, p. 827-830, oct. 2005.
- [67] Z.-S. Chang, G.-J. Zhang, X.-J. Shao, et Z.-H. Zhang, « Diagnosis of gas temperature, electron temperature, and electron density in helium atmospheric pressure plasma jet », *Phys. Plasmas*, vol. 19, n° 7, p. 073513, juill. 2012.
- [68] S. Hofmann, A. F. H. van Gessel, T. Verreycken, et P. Bruggeman, « Power dissipation, gas temperatures and electron densities of cold atmospheric pressure helium and argon RF plasma jets », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 20, n° 6, p. 065010, déc. 2011.
- [69] K. Mizuno, K. Yonetamari, Y. Shirakawa, T. Akiyama, et R. Ono, « Anti-tumor immune response induced by nanosecond pulsed streamer discharge in mice », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 50, n° 12, p. 12LT01, 2017.
- [70] P.-M. Girard et al., « Synergistic Effect of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and NO<sub>2</sub> in Cell Death Induced by Cold Atmospheric He Plasma », *Sci. Rep.*, vol. 6, p. 29098, juill. 2016.
- [71] K. Lotfy, N. A. Al-Harbi, et H. Abd El-Raheem, « Cold Atmospheric Pressure Nitrogen Plasma Jet for Enhancement Germination of Wheat Seeds », *Plasma Chem. Plasma Process.*, vol. 39, n° 4, p. 897-912, juill. 2019.
- [72] L. Sivachandiran et A. Khacef, « Enhanced seed germination and plant growth by atmospheric pressure cold air plasma: combined effect of seed and water treatment », *RSC Adv.*, vol. 7, n° 4, p. 1822-1832, 2017.
- [73] P. Lukes, E. Dolezalova, I. Sisrova, et M. Clupek, « Aqueous-phase chemistry and bactericidal effects from an air discharge plasma in contact with water: evidence

- for the formation of peroxyxynitrite through a pseudo-second-order post-discharge reaction of  $\text{H}_2\text{O}_2$  and  $\text{HNO}_2$  », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 23, n° 1, p. 015019, févr. 2014.
- [74] B. He et al., « Simultaneous quantification of aqueous peroxide, nitrate, and nitrite during the plasma-liquid interactions by derivative absorption spectrophotometry », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 50, n° 44, p. 445207, 2017.
- [75] Y. P. Raizer, *Gas Discharge Physics*, Springer. 1991.
- [76] A. Sublet, « Caractérisation de décharges à barrières diélectriques atmosphériques et sub-atmosphériques et application à la déposition de couches d'oxyde de silicium », 2007.
- [77] L. B. Loeb, *Electrical Coronas, Their Basic Physical Mechanisms*. University of California Press, 1965.
- [78] C. Montijn et U. Ebert, « Diffusion correction to the Raether-Meek criterion for the avalanche-to-streamer transition », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 39, n° 14, p. 2979, 2006.
- [79] K. H. Becker, U. Kogelschatz, K. H. Schoenbach, et R. J. Barker, *Non-Equilibrium Air Plasmas at Atmospheric Pressure*. CRC Press, 2004.
- [80] *Plasma Processing of Materials*. National Academies, 1985.
- [81] J. Chauvin, F. Judée, M. Yousfi, P. Vicendo, et N. Merbahi, « Analysis of reactive oxygen and nitrogen species generated in three liquid media by low temperature helium plasma jet », *Sci. Rep.*, vol. 7, n° 1, p. 4562, juill. 2017.
- [82] A.-A. H. Mohamed, S. M. A. Shariff, S. A. Ouf, et M. Benghanem, « Atmospheric pressure plasma jet for bacterial decontamination and property improvement of fruit and vegetable processing wastewater », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 49, n° 19, p. 195401, avr. 2016.
- [83] M. Y. Alkawareek, S. P. Gorman, W. G. Graham, et B. F. Gilmore, « Potential cellular targets and antibacterial efficacy of atmospheric pressure non-thermal plasma », *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 43, n° 2, p. 154-160, févr. 2014.
- [84] H. Xu et al., « Investigation on the RONS and bactericidal effects induced by He +  $\text{O}_2$  cold plasma jets: In open air and in an airtight chamber », *Phys. Plasmas*, vol. 25, n° 11, p. 113506, nov. 2018.
- [85] S.-Y. Yoon et al., « Effects of metastable species in helium and argon atmospheric pressure plasma jets (APPJs) on inactivation of periodontopathogenic bacteria », *J. Korean Phys. Soc.*, vol. 68, n° 10, p. 1176-1191, mai 2016.
- [86] X. Lu, Z. Jiang, Q. Xiong, Z. Tang, et Y. Pan, « A single electrode room-temperature plasma jet device for biomedical applications », *Appl. Phys. Lett.*, vol. 92, n° 15, p. 151504, avr. 2008.
- [87] Y. Wang et al., « Cold atmospheric-pressure air plasma treatment of C6 glioma cells: effects of reactive oxygen species in the medium produced by the plasma on cell death », *Plasma Sci. Technol.*, vol. 19, n° 2, p. 025503, janv. 2017.

- [88] L. Nie, Y. Yang, J. Duan, F. Sun, X. Lu, et G. He, « Effect of tissue thickness and liquid composition on the penetration of long-lifetime reactive oxygen and nitrogen species (RONS) generated by a plasma jet », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 51, n° 34, p. 345204, août 2018.
- [89] T. Murakami, K. Niemi, T. Gans, D. O’Connell, et W. G. Graham, « Afterglow chemistry of atmospheric-pressure helium–oxygen plasmas with humid air impurity », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 23, n° 2, p. 025005, 2014.
- [90] K. Gazeli, C. Noël, F. Clément, C. Daugé, P. Svarnas, et T. Belmonte, « A study of helium atmospheric-pressure guided streamers for potential biological applications », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 22, n° 2, p. 025020, 2013.
- [91] A. Begum, M. Laroussi, et M. R. Pervez, « Atmospheric pressure He-air plasma jet: Breakdown process and propagation phenomenon », *AIP Adv.*, vol. 3, n° 6, p. 062117, 2013.
- [92] F. Clement, P. Svarnas, L. Marlin, A. Gkelios, et B. Held, « Atmospheric-Pressure Plasma Microjet of Argon #x2013;Nitrogen Mixtures Directed by Dielectric Flexible Tubes », *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 39, n° 11, p. 2364-2365, nov. 2011.
- [93] A. Sarani, A. Y. Nikiforov, et C. Leys, « Atmospheric-Pressure Plasma Jet in He/H<sub>2</sub>O Mixture », *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 39, n° 11, p. 2358-2359, nov. 2011.
- [94] Y. Gorbanev, R. Soriano, D. O’Connell, et V. Chechik, « An Atmospheric Pressure Plasma Setup to Investigate the Reactive Species Formation », *J. Vis. Exp. JoVE*, n° 117, nov. 2016.
- [95] G. Wormeester, S. Pancheshnyi, A. Luque, S. Nijdam, et U. Ebert, « Probing photo-ionization: simulations of positive streamers in varying N<sub>2</sub> : O<sub>2</sub> -mixtures », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 43, n° 50, p. 505201, 2010.
- [96] C. Douat, Etude d’un micro-jet de plasma à pression atmosphérique. Paris 11, 2014.
- [97] H. M. Joh, J. Y. Choi, S. J. Kim, T. H. Chung, et T.-H. Kang, « Effect of additive oxygen gas on cellular response of lung cancer cells induced by atmospheric pressure helium plasma jet », *Sci. Rep.*, vol. 4, oct. 2014.
- [98] A. R. Gibson, H. O. McCarthy, A. A. Ali, D. O’Connell, et W. G. Graham, « Interactions of a Non-Thermal Atmospheric Pressure Plasma Effluent with PC-3 Prostate Cancer Cells », *Plasma Process. Polym.*, vol. 11, n° 12, p. 1142-1149, déc. 2014.
- [99] K. Gazeli, P. Svarnas, B. Held, L. Marlin, et F. Clément, « Possibility of controlling the chemical pattern of He and Ar “guided streamers” by means of N<sub>2</sub> or O<sub>2</sub> additives », *J. Appl. Phys.*, vol. 117, n° 9, p. 093302, mars 2015.
- [100] S. Guyot, E. Ferret, J.-B. Boehm, et P. Gervais, « Yeast cell inactivation related to local heating induced by low-intensity electric fields with long-duration pulses », *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 113, n° 2, p. 180-188, janv. 2007.

- [101] J. L. Zimmermann, T. Shimizu, H.-U. Schmidt, Y.-F. Li, G. E. Morfill, et G. Isbary, « Test for bacterial resistance build-up against plasma treatment », *New J. Phys.*, vol. 14, n° 7, p. 073037, juill. 2012.
- [102] G. E. Morfill, T. Shimizu, B. Steffes, et H.-U. Schmidt, « Nosocomial infections—a new approach towards preventive medicine using plasmas », *New J. Phys.*, vol. 11, n° 11, p. 115019, nov. 2009.
- [103] M. Laroussi et F. Leipold, « Evaluation of the roles of reactive species, heat, and UV radiation in the inactivation of bacterial cells by air plasmas at atmospheric pressure », *Int. J. Mass Spectrom.*, vol. 233, n° 1, p. 81-86, avr. 2004.
- [104] V. I. Parvulescu, M. Magureanu, et P. Lukes, *Plasma Chemistry and Catalysis in Gases and Liquids*. John Wiley & Sons, 2013.
- [105] Y. Yang, Y. I. Cho, et A. Fridman, *Plasma Discharge in Liquid: Water Treatment and Applications*. CRC Press, 2012.
- [106] P. J. Bruggeman et al., « Plasma-liquid interactions: a review and roadmap », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 25, n° 5, p. 053002, 2016.
- [107] D. Xu et al., « Intracellular ROS mediates gas plasma-facilitated cellular transfection in 2D and 3D cultures », *Sci. Rep.*, vol. 6, p. 27872, juin 2016.
- [108] N. Y. Babaeva et G. V. Naidis, « Modeling of Plasmas for Biomedicine », *Trends Biotechnol.*, vol. 36, n° 6, p. 603-614, juin 2018.
- [109] B. Al-Sakere et al., « Tumor Ablation with Irreversible Electroporation », *PLoS ONE*, vol. 2, n° 11, nov. 2007.
- [110] T. Kotnik, W. Frey, M. Sack, S. Haberl Meglič, M. Peterka, et D. Miklavčič, « Electroporation-based applications in biotechnology », *Trends Biotechnol.*, vol. 33, n° 8, p. 480-488, août 2015.
- [111] C. Douat, I. Kacem, N. Sadeghi, G. Bauville, M. Fleury, et V. Puech, « Space-time resolved density of helium metastable atoms in a nanosecond pulsed plasma jet: influence of high voltage and pulse frequency », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 49, n° 28, p. 285204, juill. 2016.
- [112] D. X. Liu, P. Bruggeman, F. Iza, M. Z. Rong, et M. G. Kong, « Global model of low-temperature atmospheric-pressure He  $+ H_2O$  plasmas », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 19, n° 2, p. 025018, mars 2010.
- [113] B. Haertel, T. von Woedtke, K.-D. Weltmann, et U. Lindequist, « Non-Thermal Atmospheric-Pressure Plasma Possible Application in Wound Healing », *Biomol Ther (Seoul)*, vol. 22, n° 6, p. 477-490, nov. 2014.
- [114] S. Samukawa et al., « The 2012 Plasma Roadmap », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 45, n° 25, p. 253001, juin 2012.
- [115] C. V. Suschek et C. Opländer, « The application of cold atmospheric plasma in medicine: The potential role of nitric oxide in plasma-induced effects », *Clin. Plasma Med.*, vol. 4, n° 1, p. 1-8, juill. 2016.

- [116] A. Koné, F. P. Saint, C. Muja, B. Caillier, et P. Guillot, « Investigation of the interaction between a helium plasma jet and conductive (metal) / non-conductive (dielectric) targets », *Plasma Med.*, 2017.
- [117] V. V. Kovačević, G. B. Sretenović, E. Slikboer, O. Guaitella, A. Sobota, et M. M. Kuraica, « The effect of liquid target on a nonthermal plasma jet—imaging, electric fields, visualization of gas flow and optical emission spectroscopy », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 51, n° 6, p. 065202, janv. 2018.
- [118] M. M. Kuraica et N. Konjević, « Electric field measurement in the cathode fall region of a glow discharge in helium », *Appl. Phys. Lett.*, vol. 70, n° 12, p. 1521-1523, mars 1997.
- [119] Foster Stuart J. et Bohr N., « Application of quantum mechanics to the stark effect in helium », *Proc. R. Soc. Lond. Ser. Contain. Pap. Math. Phys. Character*, vol. 117, n° 776, p. 137-163, déc. 1927.
- [120] A. Sobota et al., « Plasma-surface interaction: dielectric and metallic targets and their influence on the electric field profile in a kHz AC-driven He plasma jet », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 28, n° 4, p. 045003, avr. 2019.
- [121] T. Darny, J.-M. Pouvesle, V. Puech, C. Douat, S. Dozias, et E. Robert, « Analysis of conductive target influence in plasma jet experiments through helium metastable and electric field measurements », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 26, n° 4, p. 045008, 2017.
- [122] T. Darny, J.-M. Pouvesle, J. Fontane, L. Joly, S. Dozias, et E. Robert, « Plasma action on helium flow in cold atmospheric pressure plasma jet experiments », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 26, n° 10, p. 105001, 2017.
- [123] F. Judée, J. Vaquero, S. Guégan, L. Fouassier, et T. Dufour, « Atmospheric pressure plasma jets applied to cancerology: correlating electrical configuration with in vivo toxicity and therapeutic efficiency », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 52, n° 24, p. 245201, avr. 2019.
- [124] D. Gidon, B. Curtis, J. A. Paulson, D. B. Graves, et A. Mesbah, « Model-Based Feedback Control of a kHz-Excited Atmospheric Pressure Plasma Jet », *IEEE Trans. Radiat. Plasma Med. Sci.*, vol. 2, n° 2, p. 129-137, mars 2018.
- [125] « Bacteria Gram Stains: Gram Positive vs Gram Negative », Catherine Stanley. [En ligne]. Disponible sur: <http://stanleyillustration.com/latest-work/2015/2/8/ngoo8tdfmqo4tyh0vksu37vqroxnvs>. [Consulté le: 10-juin-2019].
- [126] A. Ebbensgaard, H. Mordhorst, F. M. Aarestrup, et E. B. Hansen, « The Role of Outer Membrane Proteins and Lipopolysaccharides for the Sensitivity of Escherichia coli to Antimicrobial Peptides », *Front. Microbiol.*, vol. 9, 2018.
- [127] T. J. Silhavy, D. Kahne, et S. Walker, « The Bacterial Cell Envelope », *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, vol. 2, n° 5, mai 2010.
- [128] C. W. Mullineaux, A. Nenninger, N. Ray, et C. Robinson, « Diffusion of green fluorescent protein in three cell environments in Escherichia coli », *J. Bacteriol.*, vol. 188, n° 10, p. 3442-3448, mai 2006.

- [129] « Membrane damage and active but nonculturable state in liquid cultures of *Escherichia coli* treated with an atmospheric pressure plasma jet », *Bioelectrochemistry*, vol. 103, p. 7-14, juin 2015.
- [130] S. G. Joshi et al., « Nonthermal Dielectric-Barrier Discharge Plasma-Induced Inactivation Involves Oxidative DNA Damage and Membrane Lipid Peroxidation in *Escherichia coli* », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 55, n° 3, p. 1053-1062, mars 2011.
- [131] D. Ziuzina, S. Patil, P. J. Cullen, K. M. Keener, et P. Bourke, « Atmospheric cold plasma inactivation of *Escherichia coli* in liquid media inside a sealed package », *J. Appl. Microbiol.*, vol. 114, n° 3, p. 778-787, mars 2013.
- [132] M. Dezest et al., « Oxidative modification and electrochemical inactivation of *Escherichia coli* upon cold atmospheric pressure plasma exposure », *PLOS ONE*, vol. 12, n° 3, p. e0173618, mars 2017.
- [133] V. Boxhammer et al., « Bactericidal action of cold atmospheric plasma in solution », *New J. Phys.*, vol. 14, n° 11, p. 113042, 2012.
- [134] A. Ali et al., « Inactivation of *Propionibacterium acnes* and its biofilm by non-thermal plasma », *Curr. Appl. Phys.*, vol. 14, p. S142-S148, juill. 2014.
- [135] S. Wu, H. Xu, X. Lu, et Y. Pan, « Effect of Pulse Rising Time of Pulse dc Voltage on Atmospheric Pressure Non-Equilibrium Plasma », *Plasma Process. Polym.*, vol. 10, n° 2, p. 136-140, févr. 2013.
- [136] C.-Y. Bao, T. Shao, R. Wang, Z. Zhou, Y. Zhou, et P. Yan, « A comparison between characteristics of atmospheric-pressure plasma jets sustained by nanosecond- and microsecond-pulse generators in helium », *Phys. Plasmas*, vol. 21, n° 10, p. 103505, oct. 2014.
- [137] C. Suplee, « Atomic Spectra Database », NIST, 21-juill-2009. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.nist.gov/pml/atomic-spectra-database>. [Consulté le: 04-déc-2017].
- [138] S. S. Hodgman, R. G. Dall, L. J. Byron, K. G. H. Baldwin, S. J. Buckman, et A. G. Truscott, « Metastable helium: a new determination of the longest atomic excited-state lifetime », *Phys. Rev. Lett.*, vol. 103, n° 5, p. 053002, juill. 2009.
- [139] A. Bourdon et al., « Numerical and experimental study of the dynamics of  $\mu$ s helium plasma gun discharge with various amounts of N<sub>2</sub> admixture », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 25, n° 3, p. 035002, mars 2016.
- [140] J. C. J. Koelemeij, W. Hogervorst, et W. Vassen, « High-power frequency-stabilized laser for laser cooling of metastable helium at 389 nm », *Rev. Sci. Instrum.*, vol. 76, n° 3, p. 033104, févr. 2005.
- [141] K. Baldwin, « Metastable helium: Atom optics with nano-grenades », *Contemp. Phys.*, vol. 46, n° 2, p. 105-120, mars 2005.
- [142] « toptica\_BR\_Scientific\_Lasers.pdf ».



- [143] K. S. Hardman, S. Bennetts, J. E. Debs, C. C. N. Kuhn, G. D. McDonald, et N. Robins, « Construction and Characterization of External Cavity Diode Lasers for Atomic Physics », *J. Vis. Exp. JoVE*, n° 86, avr. 2014.
- [144] « 18X1-125MHz-RCVR-180413J.pdf » . .
- [145] J. Xue, J. E. Cooley, et R. S. Urdahl, « Density of metastable atoms in the plume of a low-pressure argon microplasma », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 45, n° 36, p. 365201, 2012.
- [146] Sadeghi N., « Molecular Spectroscopy Techniques Applied for Processing Plasma Diagnostics », *Journal of Plasma and Fusion Research*, vol. 80, n° 9, p. 767-776, 2004.
- [147] B. Niermann, M. Böke, N. Sadeghi, et J. Winter, « Space resolved density measurements of argon and helium metastable atoms in radio-frequency generated He-Ar micro-plasmas », *Eur. Phys. J. D*, vol. 60, n° 3, p. 489-495, déc. 2010.
- [148] L. Montgomery Smith, D. R. Keefer, et S. I. Sudharsanan, « Abel inversion using transform techniques », *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.*, vol. 39, n° 5, p. 367-373, mai 1988.
- [149] K. Urabe, T. Morita, K. Tachibana, et B. N. Ganguly, « Investigation of discharge mechanisms in helium plasma jet at atmospheric pressure by laser spectroscopic measurements », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 43, n° 9, p. 095201, 2010.
- [150] J. Winter, J. S. Sousa, N. Sadeghi, A. Schmidt-Bleker, S. Reuter, et V. Puech, « The spatio-temporal distribution of He (23S1) metastable atoms in a MHz-driven helium plasma jet is influenced by the oxygen/nitrogen ratio of the surrounding atmosphere », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 24, n° 2, p. 025015, mars 2015.
- [151] C. Douat, « Etude d'un micro-jet de plasma à pression atmosphérique », Université Paris Sud-Paris XI, 2014.
- [152] S. Gibson, D. D. Hickstein, R. Yurchak, M. Ryazanov, D. Das, et G. Shih, *PyAbel/PyAbel: v0.8.3*. Zenodo, 2019.
- [153] « Ocean Optics - How to Choose an OEM Spectrometer.pdf » . .
- [154] « PI-MAX\_SystemManual.pdf » . .
- [155] P. Schopfer, « Histochemical Demonstration and Localization of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in Organs of Higher Plants by Tissue Printing on Nitrocellulose Paper. », *Plant Physiol.*, vol. 104, n° 4, p. 1269-1275, avr. 1994.
- [156] P. Atkins et J. de Paula, *Atkins' Physical Chemistry*. OUP Oxford, 2010.
- [157] G. Eisenberg, « Colorimetric Determination of Hydrogen Peroxide », *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, vol. 15, n° 5, p. 327-328, mai 1943.
- [158] T. Dufour, N. El-Mourad, C. De Vos, et F. Reniers, « Hydrogen peroxide generated by an atmospheric He-O<sub>2</sub>-H<sub>2</sub>O flowing post-discharge: production mechanisms and absolute quantification », *ArXiv160408803 Phys.*, avr. 2016.
- [159] P. J. Bruggeman et al., « Plasma-liquid interactions: a review and roadmap », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 25, n° 5, p. 053002, 2016.

- [160] V. V. Kovačević, B. P. Dojčinović, M. Jović, G. M. Roglić, B. M. Obradović, et M. M. Kuraica, « Measurement of reactive species generated by dielectric barrier discharge in direct contact with water in different atmospheres », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 50, n° 15, p. 155205, 2017.
- [161] « Agilent Genomics: Tools - Bio Calculators ». [En ligne]. Disponible sur: [https://www.chem.agilent.com/store/biocalculators/calcODBacterial.jsp?\\_requestid=143559](https://www.chem.agilent.com/store/biocalculators/calcODBacterial.jsp?_requestid=143559). [Consulté le: 10-sept-2019].
- [162] A. M. Wesche, J. B. Gurtler, B. P. Marks, et E. T. Ryser, « Stress, sublethal injury, resuscitation, and virulence of bacterial foodborne pathogens », *J. Food Prot.*, vol. 72, n° 5, p. 1121-1138, mai 2009.
- [163] I. Koban et al., « XTT assay of ex vivo saliva biofilms to test antimicrobial influences », *GMS Krankenhaushygiene Interdiszip.*, vol. 7, n° 1, p. Doc06, 2012.
- [164] C. McCluskey, J. P. Quinn, et J. W. McGrath, « An evaluation of three new-generation tetrazolium salts for the measurement of respiratory activity in activated sludge microorganisms », *Microb. Ecol.*, vol. 49, n° 3, p. 379-387, avr. 2005.
- [165] « XTT assay.pdf ».
- [166] A. H. Geeraerd, V. P. Valdramidis, et J. F. Van Impe, « GInaFiT, a freeware tool to assess non-log-linear microbial survivor curves », *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 102, n° 1, p. 95-105, juin 2005.
- [167] R. Xiong, G. Xie, A. E. Edmondson, et M. A. Sheard, « A mathematical model for bacterial inactivation », *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 46, n° 1, p. 45-55, janv. 1999.
- [168] H. Chick, « An Investigation of the Laws of Disinfection », *J. Hyg. (Lond.)*, vol. 8, n° 1, p. 92-158, janv. 1908.
- [169] A. H. Geeraerd, C. H. Herremans, et J. F. Van Impe, « Structural model requirements to describe microbial inactivation during a mild heat treatment », *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 59, n° 3, p. 185-209, sept. 2000.
- [170] D. R. Janero, « Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury », *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 9, n° 6, p. 515-540, janv. 1990.
- [171] M. M. Bradford, « A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding », *Anal. Biochem.*, vol. 72, n° 1, p. 248-254, mai 1976.
- [172] « sodB - Superoxide dismutase [Fe] - Escherichia coli (strain K12) - sodB gene & protein ». [En ligne]. Disponible sur: <https://www.uniprot.org/uniprot/P0AGD3>. [Consulté le: 08-août-2019].
- [173] « sodA - Superoxide dismutase [Mn] - Escherichia coli (strain K12) - sodA gene & protein ». [En ligne]. Disponible sur: <https://www.uniprot.org/uniprot/P00448>. [Consulté le: 08-août-2019].



- [174] « sodC - Superoxide dismutase [Cu-Zn] precursor - Escherichia coli (strain K12) - sodC gene & protein ». [En ligne]. Disponible sur: <https://www.uniprot.org/uniprot/P0AGD1>. [Consulté le: 08-août-2019].
- [175] « 19160 SOD Determination Kit », p. 4.
- [176] C. J. Weydert et J. J. Cullen, « Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue », *Nat. Protoc.*, vol. 5, n° 1, p. 51-66, janv. 2010.
- [177] A. Schmidt-Bleker, J. Winter, A. Bösel, S. Reuter, et K.-D. Weltmann, « On the plasma chemistry of a cold atmospheric argon plasma jet with shielding gas device », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 25, n° 1, p. 015005, déc. 2015.
- [178] A. Hosseinzadeh Colagar, O. Alavi, S. Motallebi, et F. Sohbatzadeh, « Decontamination of Streptococcus pyogenes and Escherichia coli from Solid Surfaces by Singlet and Triplet Atmospheric Pressure Plasma Jet Arrays », *Arab. J. Sci. Eng.*, vol. 41, n° 6, p. 2139-2145, juin 2016.
- [179] S. A. Norberg, E. Johnsen, et M. J. Kushner, « Helium atmospheric pressure plasma jets touching dielectric and metal surfaces », *J. Appl. Phys.*, vol. 118, n° 1, p. 013301, 2015.
- [180] O. Guaitella et A. Sobota, « The impingement of a kHz helium atmospheric pressure plasma jet on a dielectric surface », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 48, n° 25, p. 255202, juin 2015.
- [181] A. M. Helmenstine et al., « The Electrical Conductivity and Resistivity of Common Materials », ThoughtCo. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.thoughtco.com/table-of-electrical-resistivity-conductivity-608499>. [Consulté le: 25-mars-2019].
- [182] C. Lazarou et al., « Numerical simulation of capillary helium and helium-oxygen atmospheric pressure plasma jets: propagation dynamics and interaction with dielectric », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 27, n° 10, p. 105007, oct. 2018.
- [183] S. Hübner, J. S. Sousa, V. Puech, G. M. W. Kroesen, et N. Sadeghi, « Electron properties in an atmospheric helium plasma jet determined by Thomson scattering », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 47, n° 43, p. 432001, oct. 2014.
- [184] G. V. Naidis, « Modeling of helium plasma jets emerged into ambient air: Influence of applied voltage, jet radius, and helium flow velocity on plasma jet characteristics », *J. Appl. Phys.*, vol. 112, n° 10, p. 103304, 2012.
- [185] Z. Chang, N. Zhao, G. Li, et G. Zhang, « Plasma “bullet” with hollow structure: formation and evolution », *Sci. Rep.*, vol. 8, n° 1, p. 7599, mai 2018.
- [186] J.-P. Boeuf, L. L. Yang, et L. C. Pitchford, « Dynamics of a guided streamer (‘plasma bullet’) in a helium jet in air at atmospheric pressure », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 46, n° 1, p. 015201, janv. 2013.
- [187] S. Reuter et al., « Detection of ozone in a MHz argon plasma bullet jet », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 21, n° 3, p. 034015, juin 2012.

- [188] J. Winter, M. Dünnbier, A. Schmidt-Bleker, A. Meshchanov, S. Reuter, et K.-D. Weltmann, « Aspects of UV-absorption spectroscopy on ozone in effluents of plasma jets operated in air », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 45, n° 38, p. 385201, sept. 2012.
- [189] D. Schröder, H. Bahre, N. Knake, J. Winter, T. de los Arcos, et V. S. der Gathen, « Influence of target surfaces on the atomic oxygen distribution in the effluent of a micro-scaled atmospheric pressure plasma jet », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 21, n° 2, p. 024007, avr. 2012.
- [190] S. Reuter et al., « Atomic oxygen in a cold argon plasma jet: TALIF spectroscopy in ambient air with modelling and measurements of ambient species diffusion », *Plasma Sources Sci. Technol.*, vol. 21, n° 2, p. 024005, avr. 2012.
- [191] A. Schmidt-Bleker, J. Winter, S. Iseni, M. Dünnbier, K.-D. Weltmann, et S. Reuter, « Reactive species output of a plasma jet with a shielding gas device—combination of FTIR absorption spectroscopy and gas phase modelling », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 47, n° 14, p. 145201, mars 2014.
- [192] S. Reuter, T. von Woedtke, et K.-D. Weltmann, « The kINPen—a review on physics and chemistry of the atmospheric pressure plasma jet and its applications », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 51, n° 23, p. 233001, mai 2018.
- [193] N. K. Bibinov, A. A. Fateev, et K. Wiesemann, « On the influence of metastable reactions on rotational temperatures in dielectric barrier discharges in He-N<sub>2</sub> mixtures », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 34, n° 12, p. 1819–1826, juin 2001.
- [194] R. Peyrous, P. Pignolet, et B. Held, « Kinetic simulation of gaseous species created by an electrical discharge in dry or humid oxygen », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 22, n° 11, p. 1658–1667, nov. 1989.
- [195] Q. Li, W.-C. Zhu, X.-M. Zhu, et Y.-K. Pu, « Effects of Penning ionization on the discharge patterns of atmospheric pressure plasma jets », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 43, n° 38, p. 382001, sept. 2010.
- [196] Y. Xian et al., « From short pulses to short breaks: exotic plasma bullets via residual electron control », *Sci. Rep.*, vol. 3, avr. 2013.
- [197] A. Nakajima et al., « Effects of gas flow on oxidation reaction in liquid induced by He/O<sub>2</sub> plasma-jet irradiation », *J. Appl. Phys.*, vol. 118, n° 4, p. 043301, juill. 2015.
- [198] T. Kawasaki et al., « Two-dimensional concentration distribution of reactive oxygen species transported through a tissue phantom by atmospheric-pressure plasma-jet irradiation », *Appl. Phys. Express*, vol. 9, n° 7, p. 076202, juin 2016.
- [199] T. Kawasaki, S. Kusumegi, A. Kudo, T. Sakanoshita, T. Tsurumaru, et A. Sato, « Effects of Gas Flow Rate on Supply of Reactive Oxygen Species Into a Target Through Liquid Layer in Cold Plasma Jet », *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 44, n° 12, p. 3223–3229, déc. 2016.
- [200] T. He et al., « Transportation of ROS in model tissues treated by an Ar\O<sub>2</sub> plasma jet », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 52, n° 4, p. 045204, nov. 2018.

- [201] A. Lindsay, C. Anderson, E. Slikboer, S. Shannon, et D. Graves, « Momentum, heat, and neutral mass transport in convective atmospheric pressure plasma-liquid systems and implications for aqueous targets », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 48, n° 42, p. 424007, sept. 2015.
- [202] C. Chen et al., « A Model of Plasma-Biofilm and Plasma-Tissue Interactions at Ambient Pressure », *Plasma Chem. Plasma Process.*, vol. 34, n° 3, p. 403-441, mai 2014.
- [203] W. Tian et M. J. Kushner, « Atmospheric pressure dielectric barrier discharges interacting with liquid covered tissue », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 47, n° 16, p. 165201, 2014.
- [204] I. L. Semenov, K.-D. Weltmann, et D. Loffhagen, « Modelling of the transport phenomena for an atmospheric-pressure plasma jet in contact with liquid », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 52, n° 31, p. 315203, mai 2019.
- [205] J. Winter et al., « Tracking plasma generated H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> from gas into liquid phase and revealing its dominant impact on human skin cells », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 47, n° 28, p. 285401, 2014.
- [206] F. Judée, S. Simon, C. Bailly, et T. Dufour, « Plasma-activation of tap water using DBD for agronomy applications: Identification and quantification of long lifetime chemical species and production/consumption mechanisms », *Water Res.*, vol. 133, p. 47-59, avr. 2018.
- [207] Z. C. Liu et al., « Physicochemical processes in the indirect interaction between surface air plasma and deionized water », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 48, n° 49, p. 495201, 2015.
- [208] C. A. J. van Gils, S. Hofmann, B. K. H. L. Boekema, R. Brandenburg, et P. J. Bruggeman, « Mechanisms of bacterial inactivation in the liquid phase induced by a remote RF cold atmospheric pressure plasma jet », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 46, n° 17, p. 175203, avr. 2013.
- [209] Z. Chen, S. Zhang, I. Levchenko, I. I. Beilis, et M. Keidar, « In vitro Demonstration of Cancer Inhibiting Properties from Stratified Self-Organized Plasma-Liquid Interface », *Sci. Rep.*, vol. 7, n° 1, p. 12163, sept. 2017.
- [210] I. Jõgi, R. Talviste, J. Raud, K. Piip, et P. Paris, « The influence of the tube diameter on the properties of an atmospheric pressure He micro-plasma jet », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 47, n° 41, p. 415202, 2014.
- [211] A. B. Fradj, S. B. Hamouda, H. Ouni, R. Lafi, L. Gzara, et A. Hafiane, « Removal of methylene blue from aqueous solutions by poly(acrylic acid) and poly(ammonium acrylate) assisted ultrafiltration », *Sep. Purif. Technol.*, vol. 133, p. 76-81, sept. 2014.
- [212] N. Soltani et al., « Visible Light-Induced Degradation of Methylene Blue in the Presence of Photocatalytic ZnS and CdS Nanoparticles », *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 13, n° 10, p. 12242-12258, sept. 2012.

- [213] H. Valdés, R. F. Tardón, et C. A. Zaror, « Methylene blue removal from contaminated waters using heterogeneous catalytic ozonation promoted by natural zeolite: mechanism and kinetic approach », *Environ. Technol.*, vol. 33, n° 16-18, p. 1895-1903, sept. 2012.
- [214] M. Cheng et al., « Combined biological removal of methylene blue from aqueous solutions using rice straw and *Phanerochaete chrysosporium* », *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 99, n° 12, p. 5247-5256, juin 2015.
- [215] D. Pathania, S. Sharma, et P. Singh, « Removal of methylene blue by adsorption onto activated carbon developed from *Ficus carica* bast », *Arab. J. Chem.*, vol. 10, p. S1445-S1451, févr. 2017.
- [216] P. Attri et al., « Mechanism and comparison of needle-type non-thermal direct and indirect atmospheric pressure plasma jets on the degradation of dyes », *Sci. Rep.*, vol. 6, p. srep34419, oct. 2016.
- [217] N. P. Tantak et S. Chaudhari, « Degradation of azo dyes by sequential Fenton's oxidation and aerobic biological treatment », *J. Hazard. Mater.*, vol. 136, n° 3, p. 698-705, août 2006.
- [218] J. Abhilasha, A. Ashma, et K. Marazban, « A GREENER APPROACH FOR THE DEGRADATION OF DYE METHYLENE BLUE BY ORGANIC ADDITIVE CATALYSED PHOTO - FENTON PROCESS », *J. Chil. Chem. Soc.*, vol. 61, n° 3, p. 3043-3048, sept. 2016.
- [219] C.-H. Liao et L. M. Shollenberger, « Survivability and long-term preservation of bacteria in water and in phosphate-buffered saline\* », *Lett. Appl. Microbiol.*, vol. 37, n° 1, p. 45-50, 2003.
- [220] F. Liu et al., « Inactivation of Bacteria in an Aqueous Environment by a Direct-Current, Cold-Atmospheric-Pressure Air Plasma Microjet », *Plasma Process. Polym.*, vol. 7, n° 3-4, p. 231-236, 2010.
- [221] S. Ikawa, K. Kitano, et S. Hamaguchi, « Effects of pH on Bacterial Inactivation in Aqueous Solutions due to Low-Temperature Atmospheric Pressure Plasma Application », *Plasma Process. Polym.*, vol. 7, n° 1, p. 33-42, 2010.
- [222] Reactivity of HO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> Radicals in Aqueous Solution. Washington, DC, New York: American Chemical Society, 1985.
- [223] R. M. Cordeiro, « Reactive oxygen species at phospholipid bilayers: Distribution, mobility and permeation », *Biochim. Biophys. Acta BBA - Biomembr.*, vol. 1838, n° 1, Part B, p. 438-444, janv. 2014.
- [224] R. Vila, « Book reviews : Microbiología de los alimentos. M.R. Adams y M.O. Moss. Traducido por Manuel Ramis Vegés. Publicado en 1997 por Editorial Acribia, Royo, 23 50006 Zaragoza. xiii + 464 pp. ISBN 84 200 0830 3 », *Food Sci. Technol. Int.*, vol. 3, n° 6, p. 467-468, déc. 1997.
- [225] D. a. A. Mossel, J. E. L. Corry, C. B. Struijk, et R. M. (Correspondence address: E. F. for M. M. E. and R. Baird, *Essentials of the microbiology of foods: a textbook for advanced studies*. John Wiley and Sons, 1995.

- [226] M. Huang, H. Zhuang, J. Wang, W. Yan, J. Zhao, et J. Zhang, « Inactivation Kinetics of *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in Different Media by Dielectric Barrier Discharge Non-Thermal Plasma », *Appl. Sci.*, vol. 8, n° 11, p. 2087, nov. 2018.
- [227] C. Smet, E. Noriega, F. Rosier, J. L. Walsh, V. P. Valdramidis, et J. F. Van Impe, « Impact of food model (micro)structure on the microbial inactivation efficacy of cold atmospheric plasma », *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 240, p. 47-56, janv. 2017.
- [228] J. B. Emerson et al., « Schrödinger's microbes: Tools for distinguishing the living from the dead in microbial ecosystems », *Microbiome*, vol. 5, n° 1, p. 86, août 2017.
- [229] S. Winter, A. Meyer-Lindenberg, G. Wolf, S. Reese, et M. C. Nolff, « In vitro evaluation of the decontamination effect of cold argon plasma on selected bacteria frequently encountered in small animal bite injuries », *bioRxiv*, p. 353821, juin 2018.
- [230] B. C. Dowds, « The oxidative stress response in *Bacillus subtilis* », *FEMS Microbiol. Lett.*, vol. 124, n° 3, p. 255-263, déc. 1994.
- [231] B. L. Triggs-Raine et P. C. Loewen, « Physical characterization of katG, encoding catalase HPI of *Escherichia coli* », *Gene*, vol. 52, n° 2, p. 121-128, janv. 1987.
- [232] C. Cherchi et A. Z. Gu, « Effect of bacterial growth stage on resistance to chlorine disinfection », *Water Sci. Technol. J. Int. Assoc. Water Pollut. Res.*, vol. 64, n° 1, p. 7-13, 2011.
- [233] M. Potts, « Desiccation tolerance of prokaryotes », *Microbiol. Rev.*, vol. 58, n° 4, p. 755-805, déc. 1994.
- [234] D. A. Siegele et R. Kolter, « Life after log », *J. Bacteriol.*, vol. 174, n° 2, p. 345-348, janv. 1992.
- [235] M. Fakruddin, K. S. B. Mannan, et S. Andrews, « Viable but Nonculturable Bacteria: Food Safety and Public Health Perspective », *International Scholarly Research Notices*, 2013. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.hindawi.com/journals/isrn/2013/703813/>. [Consulté le: 23-juin-2019].
- [236] F. Schottroff, A. Fröhling, M. Zunabovic-Pichler, A. Krottenthaler, O. Schlüter, et H. Jäger, « Sublethal Injury and Viable but Non-culturable (VBNC) State in Microorganisms During Preservation of Food and Biological Materials by Non-thermal Processes », *Front. Microbiol.*, vol. 9, nov. 2018.
- [237] S. S. Epstein, « Microbial awakenings », *Nature*, vol. 457, n° 7233, p. 1083, févr. 2009.
- [238] W. Baffone et al., « Retention of virulence in viable but non-culturable halophilic *Vibrio* spp », *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 89, n° 1, p. 31-39, déc. 2003.
- [239] H. C. Wong et P. Wang, « Induction of viable but nonculturable state in *Vibrio parahaemolyticus* and its susceptibility to environmental stresses », *J. Appl. Microbiol.*, vol. 96, n° 2, p. 359-366, 2004.

- [240] A. R. Gupte, C. L. E. de Rezende, et S. W. Joseph, « Induction and Resuscitation of Viable but Nonculturable *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium DT104† », *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 69, n° 11, p. 6669-6675, nov. 2003.
- [241] J. D. Oliver, « Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria », *FEMS Microbiol. Rev.*, vol. 34, n° 4, p. 415-425, juill. 2010.
- [242] M. Laroussi, D. A. Mendis, et M. Rosenberg, « Plasma interaction with microbes », *New J. Phys.*, vol. 5, n° 1, p. 41, 2003.
- [243] P. Estifae, X. Su, S. K. Yannam, S. Rogers, et S. M. Thagard, « Mechanism of *E. coli* Inactivation by Direct-in-liquid Electrical Discharge Plasma in Low Conductivity Solutions », *Sci. Rep.*, vol. 9, n° 1, p. 1-12, févr. 2019.
- [244] L. Han, S. Patil, D. Boehm, V. Milosavljević, P. J. Cullen, et P. Bourke, « Mechanisms of Inactivation by High-Voltage Atmospheric Cold Plasma Differ for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* », *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 82, n° 2, p. 450-458, janv. 2016.
- [245] A. Nakamura et al., « Oxidative cellular damage associated with transformation of *Helicobacter pylori* from a bacillary to a coccoid form », *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 28, n° 11, p. 1611-1618, juin 2000.
- [246] J. Shen et al., « Observation of inactivation of *Bacillus subtilis* spores under exposures of oxygen added argon atmospheric pressure plasma jet », *Jpn. J. Appl. Phys.*, vol. 53, n° 11, p. 110310, oct. 2014.
- [247] M. Moisan, J. Barbeau, S. Moreau, J. Pelletier, M. Tabrizian, et L. H. Yahia, « Low-temperature sterilization using gas plasmas: a review of the experiments and an analysis of the inactivation mechanisms », *Int. J. Pharm.*, vol. 226, n° 1-2, p. 1-21, sept. 2001.
- [248] C. Pignata, D. D'Angelo, E. Fea, et G. Gilli, « A review on microbiological decontamination of fresh produce with nonthermal plasma », *J. Appl. Microbiol.*, vol. 122, n° 6, p. 1438-1455, juin 2017.
- [249] J. Pawlat, « Atmospheric pressure plasma jet for decontamination purposes », *Eur. Phys. J. - Appl. Phys.*, vol. 61, n° 2, févr. 2013.
- [250] D. Ziuzina, « Atmospheric Cold Plasma as a Tool for Microbiological Control », Doctoral, janv. 2015.
- [251] S. Patil, V. P. Valdramidis, K. a. G. Karatzas, P. J. Cullen, et P. Bourke, « Assessing the microbial oxidative stress mechanism of ozone treatment through the responses of *Escherichia coli* mutants », *J. Appl. Microbiol.*, vol. 111, n° 1, p. 136-144, 2011.
- [252] A. D. Yost et S. G. Joshi, « Atmospheric Nonthermal Plasma-Treated PBS Inactivates *Escherichia coli* by Oxidative DNA Damage », *PLOS ONE*, vol. 10, n° 10, p. e0139903, oct. 2015.
- [253] T. Yamada, Y. Shimomura, Y. Hiraoka, et K. Kimbara, « Oxidative stress by biphenyl metabolites induces inhibition of bacterial cell separation », *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 73, n° 2, p. 452-457, nov. 2006.



- [254] P. Venditti, A. Bari, L. Di Stefano, et S. Di Meo, « Vitamin E attenuates cold-induced rat liver oxidative damage reducing H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mitochondrial release », *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, vol. 39, n° 9, p. 1731-1742, 2007.
- [255] J. M. Pérez, F. A. Arenas, G. A. Pradenas, J. M. Sandoval, et C. C. Vásquez, « Escherichia coli YqhD exhibits aldehyde reductase activity and protects from the harmful effect of lipid peroxidation-derived aldehydes », *J. Biol. Chem.*, vol. 283, n° 12, p. 7346-7353, mars 2008.
- [256] S. J. Yoon, J. E. Park, J.-H. Yang, et J.-W. Park, « OxyR regulon controls lipid peroxidation-mediated oxidative stress in Escherichia coli », *J. Biochem. Mol. Biol.*, vol. 35, n° 3, p. 297-301, mai 2002.
- [257] D. A. Mendis, M. Rosenberg, et F. Azam, « A note on the possible electrostatic disruption of bacteria », *IEEE Trans. Plasma Sci.*, vol. 28, n° 4, p. 1304-1306, août 2000.
- [258] M. Yusupov, E. C. Neyts, U. Khalilov, R. Snoeckx, A. C. T. van Duin, et A. Bogaerts, « Atomic-scale simulations of reactive oxygen plasma species interacting with bacterial cell walls », *New J. Phys.*, vol. 14, n° 9, p. 093043, sept. 2012.
- [259] T.-Y. Chung et al., « Plasma Deactivation of Endotoxic Biomolecules: Vacuum Ultraviolet Photon and Radical Beam Effects on Lipid A », *Plasma Process. Polym.*, vol. 10, n° 2, p. 167-180, 2013.
- [260] J.-W. Lackmann et J. E. Bandow, « Inactivation of microbes and macromolecules by atmospheric-pressure plasma jets », *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 98, n° 14, p. 6205-6213, juill. 2014.
- [261] P. Gilbert, « The revival of micro-organisms sublethally injured by chemical inhibitors », *Soc. Appl. Bacteriol. Symp. Ser.*, n° 12, p. 175-197, 1984.
- [262] G. Cebrián, S. Condón, et P. Mañas, « Physiology of the Inactivation of Vegetative Bacteria by Thermal Treatments: Mode of Action, Influence of Environmental Factors and Inactivation Kinetics », *Foods*, vol. 6, n° 12, nov. 2017.
- [263] N. D. Vaze, S. Park, A. D. Brooks, A. Fridman, et S. G. Joshi, « Involvement of multiple stressors induced by non-thermal plasma-charged aerosols during inactivation of airborne bacteria », *PloS One*, vol. 12, n° 2, p. e0171434, 2017.
- [264] X. Liao, Q. Xiang, D. Liu, S. Chen, X. Ye, et T. Ding, « Lethal and Sublethal Effect of a Dielectric Barrier Discharge Atmospheric Cold Plasma on Staphylococcus aureus », *J. Food Prot.*, vol. 80, n° 6, p. 928-932, mai 2017.
- [265] H. Izumi et A. Inoue, « Viability of Chlorine-injured Escherichia Coli O157:H7 on Fresh-cut Cabbage during Cold Storage in High CO<sub>2</sub> Atmospheres », *Biocontrol Sci.*, vol. 23, n° 4, p. 199-206, 2018.
- [266] L. Espina, D. García-Gonzalo, et R. Pagán, « Detection of Thermal Sublethal Injury in Escherichia coli via the Selective Medium Plating Technique: Mechanisms and Improvements », *Front. Microbiol.*, vol. 7, p. 1376, 2016.



- [267] D. García, N. Gómez, S. Condón, J. Raso, et R. Pagán, « Pulsed electric fields cause sublethal injury in *Escherichia coli* », *Lett. Appl. Microbiol.*, vol. 36, n° 3, p. 140-144, 2003.
- [268] E. Doležalová, V. Prukner, P. Lukeš, et M. Šimek, « Stress response of *Escherichia coli* induced by surface streamer discharge in humid air », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 49, p. 075401, févr. 2016.
- [269] M.-J. Han et S. Y. Lee, « The *Escherichia coli* Proteome: Past, Present, and Future Prospects », *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, vol. 70, n° 2, p. 362-439, juin 2006.
- [270] S. I. Liochev, L. Benov, D. Touati, et I. Fridovich, « Induction of the soxRS regulon of *Escherichia coli* by superoxide », *J. Biol. Chem.*, vol. 274, n° 14, p. 9479-9481, avr. 1999.
- [271] X. Zhao et K. Drlica, « Reactive oxygen species and the bacterial response to lethal stress », *Curr. Opin. Microbiol.*, vol. 0, p. 1-6, oct. 2014.
- [272] I. R. Tsaneva et B. Weiss, « soxR, a locus governing a superoxide response regulon in *Escherichia coli* K-12 », *J. Bacteriol.*, vol. 172, n° 8, p. 4197-4205, août 1990.
- [273] J. A. Imlay, « The molecular mechanisms and physiological consequences of oxidative stress: lessons from a model bacterium », *Nat. Rev. Microbiol.*, vol. 11, n° 7, p. 443-454, juill. 2013.
- [274] Y. Sun, Q. Ye, M. Wu, Y. Wu, C. Zhang, et W. Yan, « High yields and soluble expression of superoxide dismutases in *Escherichia coli* due to the HIV-1 Tat peptide via increases in mRNA transcription », *Exp. Mol. Med.*, vol. 48, n° 10, p. e264, oct. 2016.
- [275] C. N. Broxton et V. C. Culotta, « SOD Enzymes and Microbial Pathogens: Surviving the Oxidative Storm of Infection », *PLOS Pathog.*, vol. 12, n° 1, p. e1005295, janv. 2016.
- [276] A.-F. Miller, « Superoxide dismutases: ancient enzymes and new insights », *FEBS Lett.*, vol. 586, n° 5, p. 585-595, mars 2012.
- [277] D. A. Clare, J. Blum, et I. Fridovich, « A hybrid superoxide dismutase containing both functional iron and manganese », *J. Biol. Chem.*, vol. 259, n° 9, p. 5932-5936, mai 1984.
- [278] L. T. Benov et I. Fridovich, « *Escherichia coli* expresses a copper- and zinc-containing superoxide dismutase », *J. Biol. Chem.*, vol. 269, n° 41, p. 25310-25314, oct. 1994.
- [279] S. Z. Potter et J. S. Valentine, « The perplexing role of copper-zinc superoxide dismutase in amyotrophic lateral sclerosis (Lou Gehrig's disease) », *J. Biol. Inorg. Chem. JBIC Publ. Soc. Biol. Inorg. Chem.*, vol. 8, n° 4, p. 373-380, avr. 2003.
- [280] R. Santos, S. Bocquet, A. Puppo, et D. Touati, « Characterization of an Atypical Superoxide Dismutase from *Sinorhizobium meliloti* », *J. Bacteriol.*, vol. 181, n° 15, p. 4509-4516, août 1999.

- [281] K. A. Hopkin, M. A. Papazian, et H. M. Steinman, « Functional differences between manganese and iron superoxide dismutases in *Escherichia coli* K-12 », *J. Biol. Chem.*, vol. 267, n° 34, p. 24253-24258, déc. 1992.
- [282] F. Liu, B. Zhang, Z. Fang, M. Wan, H. Wan, et K. (Ken) Ostrikov, « Jet-to-jet interactions in atmospheric-pressure plasma jet arrays for surface processing », *Plasma Process. Polym.*, vol. 15, n° 1, p. 1700114, 2018.
- [283] M. Ghasemi, P. Olszewski, J. W. Bradley, et J. L. Walsh, « Interaction of multiple plasma plumes in an atmospheric pressure plasma jet array », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 46, n° 5, p. 052001, janv. 2013.
- [284] C. Zhang, T. Shao, Y. Zhou, Z. Fang, P. Yan, et W. Yang, « Effect of O<sub>2</sub> additive on spatial uniformity of atmospheric-pressure helium plasma jet array driven by microsecond-duration pulses », *Appl. Phys. Lett.*, vol. 105, n° 4, p. 044102, juill. 2014.
- [285] Z. Cao, J. L. Walsh, et M. G. Kong, « Atmospheric plasma jet array in parallel electric and gas flow fields for three-dimensional surface treatment », *Appl. Phys. Lett.*, vol. 94, n° 2, p. 021501, janv. 2009.
- [286] J. Y. Kim, J. Ballato, et S.-O. Kim, « Intense and Energetic Atmospheric Pressure Plasma Jet Arrays », *Plasma Process. Polym.*, vol. 9, n° 3, p. 253-260, 2012.
- [287] A. Stancampiano, N. Selaković, M. Gherardi, N. Puač, Z. L. Petrović, et V. Colombo, « Characterisation of a multijet plasma device by means of mass spectrometric detection and iCCD imaging », *J. Phys. Appl. Phys.*, vol. 51, n° 48, p. 484004, oct. 2018.
- [288] T. A. Ternes, « Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers », *Water Res.*, vol. 32, n° 11, p. 3245-3260, nov. 1998.





